

# Eficiência de antioxidantes na estabilização do Biodiesel

Ricardo Nuno Quesado Alves

Outubro de 2012

Orientação: Professor Doutor Jorge Manuel Pinto de Jesus Garrido

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Jorge Garrido, pela orientação exercida, pelos seus valiosos ensinamentos, pela sua paciência e apoio absoluto, contribuindo para que este trabalho fosse realizado e concluído com sucesso. O meu muito obrigado.

À Engenheira Marta e a Engenheira Vanoushe Rahemi, pela ajuda e apoio que me deram, pela boa disposição e amizade, o meu agradecimento.

Aos meus amigos que sempre me ajudaram e me apoiaram e incentivaram a realizar este trabalho, o meu agradecimento.

À Patrícia, pelo apoio e ajuda incondicional, pela amizade e carinho, a minha grande estima e o meu muito obrigado.

Aos meus pais e a minha irmã, pelos ensinamentos que me deram, pelo apoio, pelo carinho, pela ajuda incondicional, a minha estima e reconhecimento. O meu muito obrigado.



## Resumo

O Biodiesel é uma fonte de energia renovável que actualmente se encontra em expansão. O Biodiesel é constituído por uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos gordos. A existência de ácidos gordos insaturados torna o Biodiesel quimicamente menos estável, podendo ocorrer oxidação, degradação e polimerização do combustível, se este for inadequadamente armazenado ou transportado.

O objectivo deste trabalho consistiu em avaliar a eficiência da utilização de antioxidantes fenólicos (ácido protocatecuico, ácido gálico, ácido 3,4 di-hidroxifenilacético, ácido cafeico, ácido hidrocafeico, ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico, ácido m-coumárico e ácido p-coumárico), na estabilização do Biodiesel. O estudo envolveu a análise da influência do uso de cada um dos antioxidantes na inibição da peroxidação lipídica do ácido linoleico um dos principais ácidos gordos insaturados presentes na matéria-prima utilizada na produção de Biodiesel. A avaliação do efeito de inibição dos antioxidantes na peroxidação do ácido linoleico foi efetuada usando o método do tiocianato de ferro (III).

Os resultados obtidos demonstraram, que todos os ácidos fenólicos estudados, apresentam uma elevada capacidade para inibir a peroxidação lipídica do ácido linoleico. As percentagens de inibição da peroxidação do ácido linoleico variaram entre os 72%, observada para o ácido p-coumárico, e os 82 %, verificada para o ácido protocatecuico. A eficiência de inibição da peroxidação por parte dos antioxidantes fenólicos em estudo foi comparada com a obtida utilizando um antioxidante de referência, o trolox. A eficiência de inibição obtida para todos os antioxidantes fenólicos estudados foi muito superior à observada para o trolox.

Os resultados obtidos nesta dissertação permitem concluir que a utilização de ácidos fenólicos constitui uma boa alternativa para a estabilização de matrizes lipídicas, particularmente em combustíveis como o Biodiesel.



## **Abstract**

Biodiesel is a renewable energy source which is currently expanding. Biodiesel is constituted by a mixture of alkyl esters of fatty acids. The presence of unsaturated fatty acids makes Biodiesel chemically less stable and can occur oxidation, degradation and polymerization of fuel if it is improperly stored or transported.

The purpose of this study was to evaluate the efficiency of the use of phenolic antioxidants (protocatechuic acid, gallic acid, 3,4 di-hydroxyphenylacetic acid, caffeic acid, hidrocafeic acid, 3,4,5-tri-hydroxycinnamic acid, m-coumaric and p-coumaric acid), the stability of Biodiesel. The study involved the analysis of the influence of the use each antioxidants to inhibit lipid peroxidation of linoleic a major unsaturated fatty acids present in the raw materials used in the production of Biodiesel. Evaluation of the effect of inhibition of peroxidation antioxidants linoleic acid was effected using the iron thiocyanate method (III).

The results showed that all phenolic acids studied exhibit a high ability to inhibit lipid peroxidation of linoleic acid. The percentages of inhibition peroxidation of linoleic acid ranged between 72% observed for p-coumaric acid, and the 82% observed for protocatechuic acid. The efficiency of inhibition of peroxidation by the phenolic antioxidants studied was compared with that obtained using a reference antioxidant, the trolox. The efficiency of inhibition obtained for all phenolic antioxidants studied was much higher than observed for trolox.

The results obtained in this work showed that the use of phenolic acids is a good alternative for the stabilization of lipid matrices, particularly in fuels such as Biodiesel.



## Índice

1 – Introdução .....	1
1.1 – Contextualização .....	1
1.2 – O Biodiesel .....	3
1.3 – Produção de Biodiesel.....	4
1.3.1 – Matérias-primas.....	4
1.3.2 – Transesterificação.....	7
1.3.4 – Vantagens e desvantagens do Biodiesel .....	9
1.4 – Estabilidade do Biodiesel .....	10
1.4.1 – Degradação hidrolítica.....	11
1.4.2 – Degradação por oxidação.....	12
1.5 – Antioxidantes.....	16
1.5.1 – Antioxidantes naturais .....	17
1.5.2 – Antioxidantes sintéticos.....	19
1.5.3 - Classificação e mecanismos de acção.....	21
2 – Estado de arte .....	25
2.1 – Qualidade do Biodiesel.....	25
3 – Parte experimental.....	29
3.1 – Reagentes .....	29
3.2 – Material e equipamentos .....	29
3.3 – Descrição experimental .....	30
3.3.1 – Preparação de soluções .....	30
3.3.2 – Estudo da inibição da peroxidação lipídica .....	31
4 - Análise e discussão dos resultados.....	33
5 - Conclusão e sugestões futuras.....	41
Bibliografia.....	43





## Índice de Figuras

Fig.1.1 - Reacção de formação dos triglicerídeos .....	5
Fig.1.2 - Equação geral para uma reacção de transesterificação.....	6
Fig.1.3 - Reacção de transesterificação para produção de biodisel .....	7
Fig.1.4 - Posicionamento das ligações alílicas e bi-alílicas dos ácidos gordos presentes no biodisel .....	11
Fig.1.5 - Exemplo da reacção de auto-oxidação .....	11
Fig.1.6 - Mecanismo de auto-oxidação do ácido linoleico .....	13
Fig.1.7 - Estrutura do tocoferol.....	15
Fig.1.8 - Estrutura química dos Ácidos Benzoicos .....	16
Fig.1.9 - Estrutura química dos Ácidos Cinâmicos .....	16
Fig.1.10 - Estrutura química dos Cumarinas.....	17
Fig.1.11 - Estrutura fenólica de antioxidantes sintéticos butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolmenol (BHT), Propilgalato (PG) e Terc-butilhidroquirona (TBHQ).....	18
Fig.1.12 - Mecanismo de acção de antioxidantes primários.....	19
Fig. 1.13 - Estrutura química dos derivados do ácido benzoico ( a) ácido gálico; b) ácido protocatecuico; c) ácido 3,4 di-hidrxifenilacético.....	20
Fig. 1.14 - Estrutura química dos derivados do ácido cinâmico ( a) ácido cafeico; b) ácido hidrocafeico; c) ácido m-coumárico; d)ácido p-coumárico; e) ácido 3,4,5 tri-hidroxi-cinâmico.....	20
Fig.4.1 - Estudo do comportamento do ácido linoleico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo .....	32
Fig.4.2 - Estudo do comportamento da mistura ácido linoleico e ácido gálico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo .....	33
Fig.4.3 - Estudo do comportamento do trolox a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo .....	34
Fig.4.4 - Estudo da inibição peroxidação do ácido linoleico, expressa em %IP pelos antioxidantes em estudo .....	35



## Índice de tabelas

Tabela 2.1 – Tabela relativa aos valores limite de parâmetros para o Biodiesel .....	22
Tabela 4.1 – Inibição da peroxidação lipídica do ácido linoleico, expressa em percentagem de inibição (%IP), pelos diferentes antioxidantes em estudados.....	34
Tabela 4.2 – Comparação da % de inibição da peroxidação, grupos fenólicos e cadeia lateral para os antioxidantes estudados.....	37

## 1 – Introdução

O início do século XXI coincide com uma das mais importantes revoluções energéticas da existência do ser humano. A preocupação pelo desaparecimento das formas energéticas usadas até então e pelos impactos ambientais causados pelo seu uso desordenado, assim como novas tecnologias que favorecem a procura de novas formas energéticas, levaram então a um novo rumo relativamente à forma como o ser humano tenta suprir as suas necessidades de energia.

Desde o século passado, o petróleo tem sido uma das principais fontes de energia sendo o seu uso tão intensivo que várias previsões apontam para o seu fim dentro de alguns anos, o que tem condicionado fortemente o seu preço. Esta situação tem atingido contornos insustentáveis para alguns países onde a necessidade de combustível é bastante elevada, antevendo-se que a durabilidade das reservas de petróleo se esgote a curto-prazo. De facto para além das desvantagens que este combustível apresenta nomeadamente a sua lenta renovação, e as novas reservas descobertas estarem localizadas em locais de difícil extracção, questões políticas tem também favorecido as flutuações do preço do petróleo uma vez que as maiores reservas naturais de combustível estão localizadas em zonas de conflito armado. <sup>[1]</sup>

Para além das desvantagens descritas anteriormente, o uso excessivo do petróleo tem causado efeitos prejudiciais ao planeta, tais como alterações e desequilíbrios climáticos em várias regiões do planeta, destruição da camada natural do ozono e grandes alterações em diversos ecossistemas degradando-os de forma a provocar danos irreversíveis ou de difícil recuperação.

Na verdade, o aumento do preço do petróleo pode não ser considerada uma ameaça, mas sim um benefício a nível ambiental, uma vez que torna a saída da era do petróleo menos difícil, obrigando o Homem a procurar e desenvolver novas formas de energia. Neste sentido, as energias renováveis, mais concretamente os biocombustíveis têm relevante importância no mundo contemporâneo, uma vez que estes são os candidatos para realizar essa sucessão.

Dentro dos biocombustíveis, o Biodiesel apresenta-se como a forma de combustível líquido com maior crescimento a nível mundial sendo aposta evidente para o futuro.

Dentro deste contexto, neste trabalho, é apresentada uma análise da proposta alternativa de energia renovável representada pelo Biodiesel. Esta alternativa que faz parte dos Mecanismos de Desenvolvimento Limpo (MDL), propostos pelo Protocolo de Quioto para os países em fase de desenvolvimento contribuírem para a redução de emissão de gases de efeito estufa (GEE).<sup>[2]</sup>

Existe actualmente um interesse acrescido sobre o tema, uma vez que o Biodiesel apresenta algumas condicionantes e termos da sua utilização como combustível, nomeadamente a sua pouca estabilidade durante o armazenamento. Assim, neste trabalho são realizados diversos estudos tendo em vista o desenvolvimento e aplicação de compostos que possam garantir essa estabilidade necessária ao Biodiesel durante o seu armazenamento.

## **1.1 – Contextualização**

A denominação de biocombustíveis, surge devido ao facto de estes serem produzidos a partir de matéria orgânica, tanto vegetal como animal, ou seja de fontes consideradas renováveis.<sup>[1]</sup> Os biocombustíveis mais produzidos actualmente são o Biodiesel, bioálcool, bioéter e biogás. Dentro dos biocombustíveis mais produzidos, o Biodiesel aparece como o substituto do petróleo, para alimentar motores a diesel, tanto na forma pura como em misturas com o próprio gasóleo.

Apesar dos biocombustíveis como o Biodiesel estarem actualmente a ganhar terreno para os combustíveis fósseis, os primeiros relatos sobre o seu uso surgiram no início do século passado.

O processo de produção de Biodiesel, denominado por transesterificação já era usado no século XIX para a produção de glicerina utilizada na produção de sabonetes. Os primeiros relatos sobre o uso de um biocombustível, surgiram no ano de 1900, quando Rudolph Diesel apresentou um motor de ignição-compressão que funcionava a óleo de amendoim, dando assim início ao uso dos biocombustíveis. No entanto, esta descoberta foi menosprezada uma vez que em 1912, os principais governos mundiais, viabilizaram o uso de fontes energéticas como o carvão e o petróleo uma vez que estes existiam em grande quantidade. Somente, em 1970, quando ocorreu uma grave crise energética, que levou a um aumento significativo do preço do petróleo, se verificou novamente o interesse pela produção e utilização de biocombustíveis. No ano de 1982 ocorreram as primeiras provas técnicas do Biodiesel e 3 anos mais tarde, em 1985 foi construída a primeira planta industrial para a produção de Biodiesel a partir de

óleo de colza. Actualmente existem alguns países como a Alemanha, Canadá, Áustria, Malásia, Suécia e EUA, que são considerados pioneiros na análise e uso de Biodiesel em automóveis.<sup>[3]</sup>

## 1.2 – O Biodiesel

O conceito Biodiesel, não está ainda bem consolidado, uma vez que continuam a subsistir algumas diferenças entre as diversas definições propostas. No entanto, todas têm em comum, que o Biodiesel é uma mistura de óleos vegetais ou animais e diesel mineral, com proporções de 90% de óleos e 10% de álcool.<sup>[2]</sup>

O Biodiesel pode ser obtido por fontes renováveis, a partir de óleos vegetais e animais, através de um processo denominado de transesterificação, caracterizado por uma reacção química entre os triglicerídeos que constituem o óleo ou gordura e um álcool de cadeia curta, por exemplo o metanol. Para facilitar a reacção pode ser adicionado um catalisador de carácter ácido ou alcalino que tem a particularidade de acelerar a reacção e realizar a quebra da molécula do óleo ou gordura. O produto principal obtido é uma mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos denominados de Biodiesel, formando-se como subproduto da reacção a glicerina.<sup>[4][5]</sup>

Em termos estruturais, o Biodiesel é composto por uma cadeia de hidrocarbonetos saturados e insaturados longos ( $C_{16}$ - $C_{18}$ ), sendo classificado como uma mistura de ésteres de ácidos gordos de cadeia longa.

Como foi referido anteriormente, são usados óleos vegetais e gorduras animais para a produção deste biocombustível, sendo que a matéria-prima usada para a fabricação vai influenciar as propriedades finais nomeadamente a cor e o cheiro. Normalmente o Biodiesel apresenta uma cor amarelada podendo variar a sua tonalidade, de amarelo claro até alaranjado, dependendo da matéria-prima, sendo o cheiro muito parecido com o óleo usado na sua produção.<sup>[1]</sup>

Comparativamente com os combustíveis fósseis, o Biodiesel apresenta-se como uma alternativa “amiga do ambiente”, uma vez que é um combustível renovável, orgânico e mais limpo, liberta uma quantidade menor de dióxido de carbono, gerando índices de poluição significativamente mais baixos, não colaborando para o aquecimento global, e também por se apresentar como uma boa alternativa de forma que países em desenvolvimento não dependam economicamente do petróleo.

Em relação à viabilidade técnica do Biodiesel para o seu uso como combustível, este pode ser usado no seu estado puro, ou em misturas com o petrodiesel comum, sendo esta a prática mais comum actualmente uma vez que o Biodiesel apresenta na sua forma primária um teor energético mais baixo para a combustão. <sup>[4]</sup>

### **1.3 – Produção de Biodiesel**

Como tem sido referido o Biodiesel é produzido a partir de matéria orgânica animal ou vegetal sendo o processo mais utilizado denominado de transesterificação. Actualmente a matéria-prima mais utilizada são os óleos vegetais virgens ou os óleos vegetais residuais resultantes de processos de fritura. Os óleos considerados residuais apresentam a vantagem de economicamente serem mais viáveis, uma vez que sendo considerados descartáveis, são mais fáceis de obter. Pelo contrário, os óleos virgens embora apresentem um impacto social positivo, uma vez que podem gerar uma grande quantidade de empregos, a sua produção apresenta um grande investimento comparado com a forma como os óleos residuais são adquiridos.

#### **1.3.1 – Matérias-primas**

- **Óleos e gorduras**

As principais matérias-primas utilizadas na produção de Biodiesel, são os óleos e as gorduras de origem vegetal ou animal. A grande diferença entre estas reside no seu estado físico, os óleos à temperatura ambiente apresentam-se no estado líquido e as gorduras têm uma estrutura sólida. Os óleos usados são, em geral de origem vegetal e as gorduras de origem animal, existindo, no entanto, algumas excepções como a manteiga de cacau e o óleo de peixe. <sup>[6]</sup>

Embora os principais óleos vegetais usados sejam o óleo de girassol, colza, milho, soja e também óleo extraído do algodão, podem também ser utilizados óleos que já tenham sido usados em processos de fritura. Em termos de matérias-primas provenientes de origem animal, são usadas sebo animal (bovinos e suínos) assim como óleos de peixe.

Tanto os óleos vegetais como as gorduras, apresentam como componente comum principal, os ésteres, que são formados na reacção de glicerol com ácidos gordos denominados de glicerídeos, quando se encontram três grupos glicerol esterificados



com ácidos gordos são designados de triglicerídeos, como se pode observar na figura 1.1. Em ambos os casos, também podem ser encontrados diacilgliceróis e monoacilgliceróis, dependendo do número de grupos esterificados no glicerol. Assim, os óleos e as gorduras são misturas complexas que apresentam na sua composição cerca de 95% de triglicerídeos que podem ser mistos e/ou simples. Como se encontram numa percentagem elevada na matéria-prima do Biodiesel, os triglicerídeos vão conferir as características principais ao combustível, e naturalmente vão interferir na composição do mesmo, podendo óleos e gorduras diferentes gerar características diferentes.

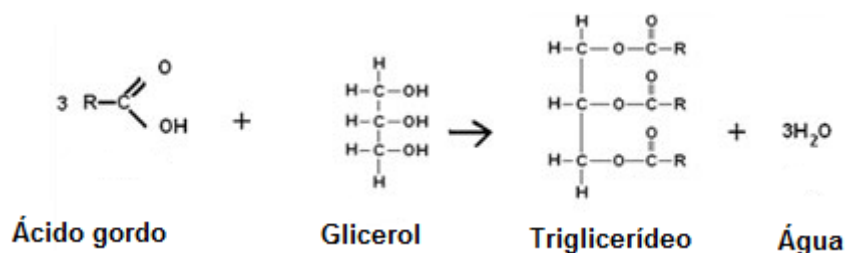


Fig. 1.1 - Reacção de formação dos triglicerídeos

- **Álcoois**

Os álcoois usados no processo de transesterificação são caracterizados por apresentarem uma cadeia curta. Estes álcoois têm a vantagem de serem mais económicos. Os álcoois mais usados são o metanol e o etanol, sendo que habitualmente a escolha recai para o metanol uma vez que este apresenta uma maior polaridade e por isso retém uma menor quantidade de água na reacção, embora o seu manuseamento acarrete maiores riscos por ser tóxico. Relativamente ao etanol, apresenta mais vantagens em termos ambientais já que provém de uma fonte renovável e não é tóxico, mas preferencialmente deve ser empregue etanol anidro, uma vez que a presença de água na reacção pode originar a ocorrência de hidrólise dos ésteres. <sup>[3]</sup>

- **Catalisadores**

Na indústria moderna os catalisadores são um artefacto muito importante, uma vez que o seu uso permite a obtenção de quantidades elevadas de um produto em menos

tempo. No caso da transesterificação, os catalisadores são responsáveis por tornar o processo de produção economicamente viável, uma vez que sem o seu uso a transformação dos triglicerídeos em Biodiesel seria inexequível a grande escala.

A grande função dos catalisadores é a de acelerar e direccionar termodinamicamente as reacções, sem serem consumidos. O catalisador cria ligações entra as moléculas que vão reagir fazendo com que essa reacção se dê mais rápido, obtendo-se assim o produto. Quando este se forma o catalisador separa-se, ficando disponível para uma nova reacção.<sup>[6]</sup>

A transesterificação pode ser efectuada com auxílio de vários tipos de catalisadores, dependendo do tipo de processo que se pretende realizar. Em processos enzimáticos, os catalisadores utilizados são os catalisadores enzimáticos como por exemplo as lípases. Estes compostos têm como função catalisar a hidrólise de gorduras ou dos óleos com a posterior liberação de ácidos gordos livres, monoglicerídeos, diglicerídeos e glicerol livre. Em relação aos catalisadores clássicos, os catalisadores enzimáticos apresentam a vantagem de serem biocatalisadores apresentando reacções com baixo teor de subprodutos e necessitarem de condições de temperatura e pressão baixas. A principal desvantagem desta espécie de catalisadores está relacionada com a sua baixa disponibilidade no mercado, aumentando o seu preço o que faz com que habitualmente se opte por outro tipo de catalisadores.<sup>[23]</sup>

Um outro tipo de catalisadores que podem ser usados na produção de Biodiesel pelo processo de transesterificação são os denominados catalisadores homogéneos como por exemplo os metóxidos e hidróxidos de sódio e potássio. Este tipo de catalisadores é necessariamente restrito para matérias-primas que apresentem um teor baixo de acidez para evitar o consumo improdutivo de álcool e diminuir a formação de subprodutos de reacção, neste caso o glicerol.<sup>[23]</sup>

O grupo de catalisadores heterogéneos apesar de apresentarem uma baixa actividade reaccional quando comparado com os catalisadores tradicionais, têm tido um acréscimo na sua utilização uma vez que apresentam grande facilidade de separação relativamente ao meio reaccional e possibilitam a sua reutilização, o que resulta em benefícios técnicos, económicos e ambientais. Em contra partida a síntese por catálise heterogénea apresenta problemas de transferência de massa em processos que os reagentes apresentem alta massa molecular, e o processo de transesterificação envolve temperaturas e pressões mais elevadas, e um excesso de metanol para se concretizar a reacção quando comparados com catalisadores homogéneos.<sup>[23]</sup>

### 1.3.2 – Transesterificação

A reacção de transesterificação começou a ser usada em 1890 para produzir glicerina para ser utilizada na produção de sabão. Dá-se o nome de transesterificação às reacções que são observadas entre um éster e um álcool dando origem a um novo éster e um novo álcool, como se pode observar na figura 1.2.

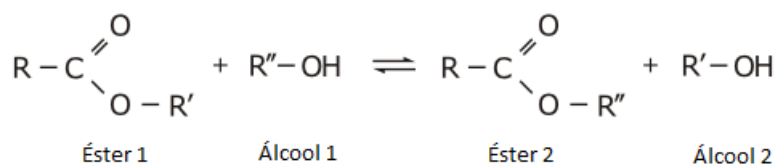


Fig. 1.2 - Equação geral para uma reacção de transesterificação

Actualmente o processo de transesterificação é o mais usado na produção de Biodiesel e é composto por três etapas: pré-tratamento de matérias-primas, reacção de transesterificação e purificação do produto final.

Na etapa de pré-tratamento das matérias-primas é realizada uma descontaminação eliminando-se impurezas ou compostos indesejáveis de modo a que não interfiram no rendimento da reacção e na qualidade do produto obtido. É necessário também que os óleos apresentem baixos níveis de humidade, procedendo-se por isso a um processo de secagem e desumidificação nos óleos. É necessário também diminuir a acidez da matéria-prima até se obter um composto neutro, que se consegue fazendo uma lavagem dos óleos com uma solução alcalina como o hidróxido de sódio ou de potássio. Por último poderá ser necessário remover ou reduzir alguns compostos que se encontrem presentes nos óleos ou gorduras, utilizando-se vários tipos de tratamento para eliminação de ácidos gordos, remoção de gomas, filtração, secagem, branqueamento e desodorização.<sup>[24]</sup>

No caso da formação do Biodiesel, os ésteres (triglicerídeos) vão reagir com o álcool, originando uma mistura de ésteres de ácidos gordos e glicerol. O éster obtido na reacção, o Biodiesel, depende do álcool utilizado para reagir com os triglicerídeos. Se for utilizado o metanol o éster formado é o metílico, caso seja usado o etanol forma-se o etílico. De salientar que os diferentes ésteres formados pelo uso de álcoois apresentam, sob o ponto de vista de combustível, as mesmas propriedades e por isso

ambos se denominam de Biodiesel. A reacção de transesterificação para produção de Biodiesel está exemplificada na figura 1.3. <sup>[1][10]</sup>



Fig. 1.3 - Reacção de transesterificação para produção de Biodiesel

Como foi referido pode ser utilizado o metanol ou o etanol para realizar a reacção de transesterificação, sendo que, o reagente usado vai incutir o nome ao próprio processo de transesterificação. Se o álcool usado for o metanol a reacção terá o nome de transesterificação metílica e no caso de ser usado o etanol denomina-se de transesterificação etílica. O metanol é o álcool mais utilizado por apresentar melhores propriedades para reagir com os óleos e formar o Biodiesel, sendo que também a reacção de transesterificação metílica apresenta rendimentos bastantes elevados na ordem dos 95%-98% e ocorre num tempo mais curto. Existe também um processo de transesterificação em que se usa metanol no estado supercrítico, permitindo também ter rendimentos bastante levados mas com tempo mais reduzidos. No entanto este processo requer temperaturas e pressões muito elevadas e necessita de um grande quantidade de metanol. <sup>[23][24]</sup>

Após o processo de transesterificação, a separação de fases torna-se essencial para se obter um produto com qualidade e alto grau de pureza. De salientar que é recomendável que o teor de água, álcool, ácidos gordos livres e glicerina sejam mínimos, de forma que o grau de pureza do Biodiesel seja de 96,5%.

Os produtos obtidos na reacção de transesterificação, o Biodiesel e o glicerol, encontram-se dispersos na mistura como resultado da constante agitação durante a reacção. O facto de os dois componentes serem imiscíveis e apresentarem densidades consideravelmente diferentes, permite que a sua separação seja mais facilitada podendo-se realizar por processos de decantação e centrifugação sem que se comprometa a pureza dos dois produtos. <sup>[24]</sup>

Depois de efectuada a separação, o Biodiesel ainda apresenta alguns resíduos de reagentes e produtos intermediários, sendo necessário realizar-se uma purificação dos

ésteres. O processo utilizado para realizar essa purificação é a lavagem húmida, que consiste na adição de água ao Biodiesel acompanhado de agitação para que sejam dissolvidos os resíduos como sabão, glicerina, sais e outros agentes contaminantes. De seguida esta mistura é sujeita a diversos processos de decantação de modo a se atingir um grau de pureza de Biodiesel com qualidade.<sup>[24]</sup>

Recentemente foi desenvolvida uma forma alternativa, por pirólise, para se produzir um produto denominado de bio-óleo sem que seja necessária a reacção de transesterificação.

Esta nova forma, consiste em colocar o óleo vegetal ou gorduras animais no interior de um reactor a altas temperaturas com uso ou não de um catalisador. Dentro desse reactor de aço inoxidável vai dar-se a ruptura das ligações de carbono, passando a mistura ao estado gasoso por influência das temperaturas elevadas, sendo depois transportada para uma coluna de destilação fraccionada com um sistema complexo de fluxo e refluxo. No interior da coluna dá-se a separação e a recuperação, em pontos diferentes da mesma, de uma mistura com características similares as do óleo diesel, gasolina ou querosene.<sup>[1]</sup>

A pirólise apresenta algumas vantagens em relação ao método da transesterificação, uma vez que não é necessária a adição de um álcool, não ocorre formação da glicerina, apresenta um investimento inicial menor e facilidade de operação, tornando o processo mais rentável em pequena e média escala que o processo de transesterificação.<sup>[1]</sup>

#### **1.3.4 – Vantagens e desvantagens do Biodiesel**

A comparação do Biodiesel com os combustíveis fósseis, dá alguma vantagem ao biocombustível uma vez que este apresenta vantagens económicas, ambientais e energéticas. Mas também perde em alguns parâmetros para os combustíveis derivados do petróleo. De seguida são apresentadas algumas das principais vantagens e desvantagens do Biodiesel.

### **Vantagens:**

- É uma fonte de energia renovável, podendo ser usados uma vasta gama de produtos na sua produção;
- Tanto a produção de Biodiesel como o seu uso, não contribuem para o aumento de CO<sub>2</sub> libertado para a atmosfera;
- O armazenamento e o transporte é facilitado, uma vez que apresenta um ponto de inflamação superior, sendo necessário atingir-se os 150°C para ocorrer risco de explosão;
- Tem um alto poder lubrificante, podendo ajudar na vida útil dos motores;
- Para misturas até 20% de Biodiesel com diesel normal, os motores não necessitam de qualquer alteração;
- A produção é economicamente mais acessível, dado que para produção de diesel, são necessários gastos em tecnologias de extracção e perfuração de poços para se obter o petróleo;

### **Desvantagens:**

- A viscosidade do Biodiesel a baixas temperaturas aumenta, podendo ocorrer cristalizações de combustível;
- Obtenção de grandes quantidades de glicerina como subproduto, podendo dar-se o caso de não se conseguir escoar toda a quantidade produzida no processo de transesterificação;
- Risco de aumento dos preços das matérias-primas necessárias à produção de Biodiesel. <sup>[9]</sup>

## **1.4 – Estabilidade do Biodiesel**

Um dos grandes entraves à utilização do Biodiesel, prende-se com a sua pouca estabilidade de armazenamento, uma vez que os combustíveis derivados do petróleo são relativamente inertes, demorando um longo período para perder as suas características essenciais durante o armazenamento. No caso do Biodiesel isso não se verifica, degradando-se rapidamente devido a acções do ar, luz, humidade e da temperatura.

A estabilidade de armazenamento de um combustível líquido é definida pela sua resistência relativa a mudanças físicas e químicas ocorridas devido à interacção com o meio ambiente. A estabilidade depende ainda da interacção com compostos

sulfurosos, dienos e oxigénio, que pode levar à formação de sedimentos e alteração de cor. A sua estabilidade, pode também ser influenciada se o produto for contaminado por partículas sólidas, água, produtos de degradação do próprio Biodiesel e microrganismos.

A pouca estabilidade que o Biodiesel apresenta, deve-se sobretudo ao fato de conter um alto teor de ésteres insaturados, sendo estes facilmente oxidados, como o linoleato de metilo e o linolenato de metilo, podendo levar à formação de compostos de decomposição como ácidos, aldeídos, ésteres, cetonas, peróxidos e álcoois. Esta reduzida estabilidade é a grande barreira para a aceitação do Biodiesel por parte dos fabricantes de motores, uma vez que a formação destes produtos, não afecta apenas as propriedades do Biodiesel mas também afecta o funcionamento do motor. <sup>[7]</sup>

A degradação oxidativa observada durante o armazenamento a longo prazo afecta as qualidades do Biodiesel em estado puro mas também em misturas com petrodiesel. Várias características são afectadas com a oxidação lipídica nomeadamente, parâmetros de qualidade do combustível, incluindo o valor da acidez e índices de peróxidos. Tanto o índice de acidez como o índice de peróxidos não constam na especificação de combustíveis da American Society for Testing and Materials (ASTM D6751) [20] nem do Comité Europeu de Normalização. Sabe-se que alterações no índice de peróxidos implicam variações no nível de cetano, fazendo com se alterem o poder de combustão e as emissões nocivas de gases de escape.

A degradação do Biodiesel pode ocorrer de várias formas, por oxidação, hidrólise, pirólise e outros processos, fazendo com que o Biodiesel perca as suas qualidades iniciais colocando em risco o seu uso como combustível.

#### **1.4.1 – Degradação hidrolítica**

Compostos como o glicerol e os mono e diacilglicerídeos que são formados na reacção de transesterificação, assim como a presença de água, são os principais responsáveis pela degradação hidrolítica no Biodiesel, uma vez que são compostos polares e tem a capacidade de se emulsificar.

Este tipo de degradação pode ocorrer por dois processos diferentes: o processo bioquímico denominado de hidrólise enzimática, e um processo químico designado não enzimático. Na hidrólise enzimática, as lípases presentes nos óleos ou gorduras, agem sobre os triglicerídeos ou ésteres, produzindo ácidos gordos livres e glicerol. No

processo não enzimático, a degradação dá-se por contacto com água ou calor, que pode ser originado por más condições no próprio processo de síntese de Biodiesel assim como no seu deficiente armazenamento. Os principais compostos formados neste tipo de degradação, são os mono e diacilglicerídeos e ácidos gordos livres.

Estes dois fenómenos são considerados deteriorantes para o Biodiesel, uma vez que com a formação dos ácidos gordos livres e dos mono e diacilglicerídeos, as qualidades iniciais do Biodiesel para ser usado como combustível vão ser alteradas ocorrendo um aumento da acidez, e formando-se compostos responsáveis pelo cheiro a ranço, como as metilcetonas e as lactonas. <sup>[8]</sup>

#### **1.4.2 – Degradação por oxidação**

A degradação por oxidação vulgarmente chamada de oxidação lipídica ocorre no Biodiesel pelo facto de este conter um alto teor em ésteres insaturados, como o linolenato de metilo e o linoleato de metilo, que são facilmente oxidados. As cadeias de ácidos gordos apresentam vários níveis de insaturação com ligações duplas em configuração cis. A existencia de insaturação, na forma não conjugada, ou seja ligações duplas separadas por um grupo metilo adjacente a duas insaturações, originam um local favorável para ocorrer oxidação. Uma vez que pode ocorrer isomerização imediata e estas estruturas conjugadas tornam-se mais estáveis. Por sua vez, o oxigénio pode reagir com estas estruturas mais estáveis e formar peróxidos.

A rancificação oxidativa, outro nome pelo qual é chamada a degradação oxidativa, não ocorre de forma tão simples nas cadeias de ácidos gordos saturados uma vez que a formação de radicais livres não é energeticamente favorável. O que acontece, é que a presença de ligações duplas nessas cadeias faz com que seja necessário menor energia para quebrar a ligação C-H nas posições alílicas e bi-alílicas que comprometem a estabilidade da molécula dando origem à degradação oxidativa. <sup>[7]</sup>



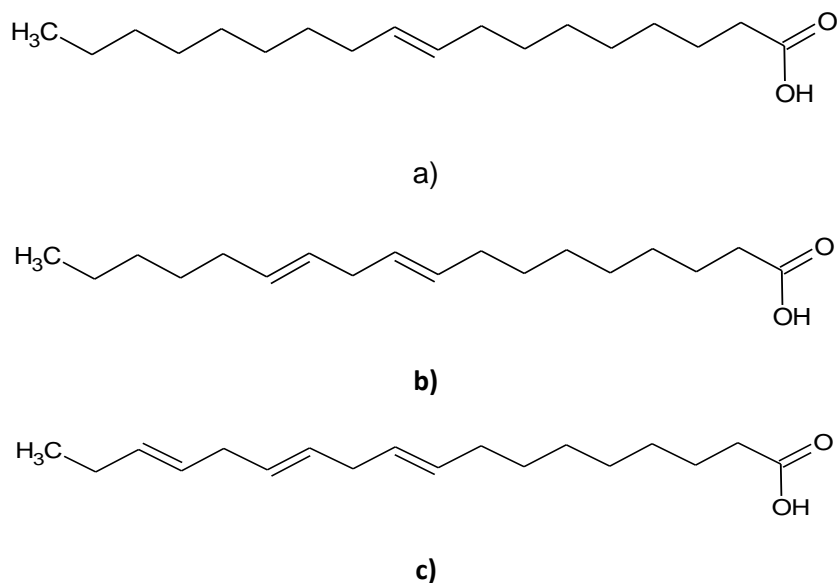


Fig. 1.4 - Posicionamento das ligações alílicas e bi-alílicas dos ácidos gordos presentes no Biodiesel ( a) ácido oleico; b) ácido linoleico; c) ácido linolénico)

### • Auto-oxidação

A auto-oxidação é a principal responsável pela ocorrência da oxidação lipídica. Este fenómeno ocorre devido ao contacto entre cadeias de ácidos gordos insaturados, mais concretamente as ligações duplas com o oxigénio. É caracterizada por ser uma reacção complexa, dividindo-se em três etapas, a iniciação, a propagação e a terminação, como se pode observar na figura 1.5.

É uma reacção que necessita de pouca energia para ocorrer (Energia de Activação), e a velocidade com que a reacção se desenvolve depende da quantidade de ligações que a matéria gorda apresenta, formando radicais livres. <sup>[8]</sup>

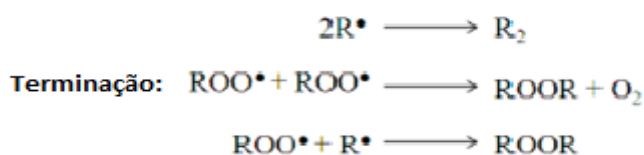
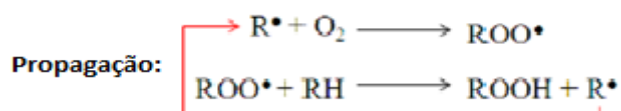


Fig. 1.5 - Exemplo de reacção de auto-oxidação

Na etapa da iniciação, ocorre a formação dos radicais livres devido à rotura da ligação de hidrogénio do carbono alílico. A formação dos primeiros radicais livres pode ser explicada pela acção da luz sobre o hidrogénio, por catálise de iões metálicos e por um ataque do oxigénio à ligação dupla.

Na propagação, os radicais formados na fase da iniciação, reagem com o oxigénio, formando novos radicais como o peróxido ( $\text{ROO}^\bullet$ ) e o hidroperóxido ( $\text{ROOH}$ ). Nesta fase, a quantidade destes novos radicais aumenta significativamente, tornando-se assim uma etapa bastante importante na oxidação do combustível.

Na fase da terminação os dois radicais formados na propagação combinam-se, dando origem à formação de novos produtos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis).<sup>[8][19]</sup>

Esta fase pode alterar significativamente as propriedades do Biodiesel, como a viscosidade, a composição do óleo e conferindo um odor forte ao biocombustível.<sup>[9]</sup>

Na figura 1.6 exemplifica-se a reacção de auto-oxidação do ácido linoleico, um dos principais ácidos gordos presentes no Biodiesel.

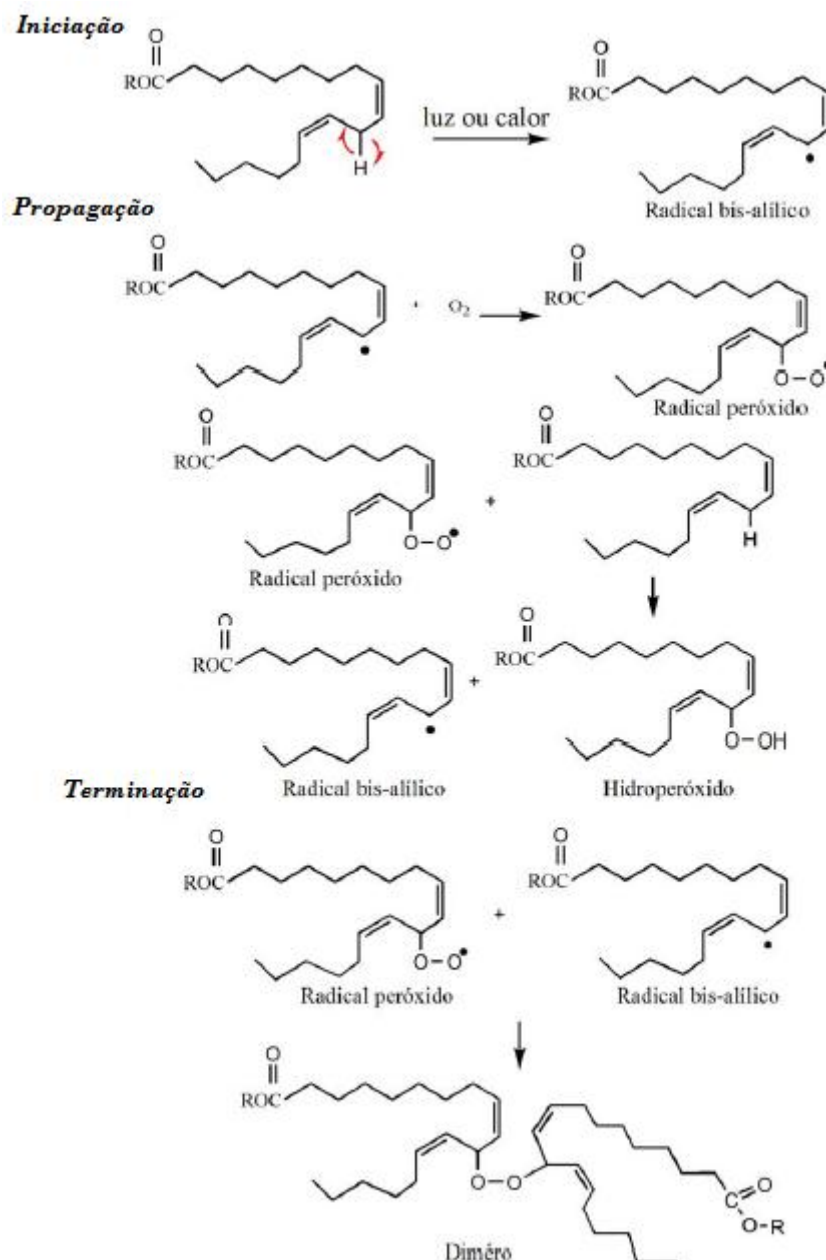


Fig. 1.6 - Mecanismo de auto-oxidação do ácido linoleico

- **Foto-oxidação**

A foto-oxidação é um mecanismo que ocorre, como o nome sugere, pela presença de luz. A luz é captada por pigmentos fotossintéticos como a clorofila, mioglobina, riboflavina, etc, na região do visível mas muito perto da região ultravioleta. Essa radiação é transferida para o oxigénio tripleto ( $^3\text{O}_2$ ) levando-o à forma de oxigénio singleto ( $^1\text{O}_2$ ) reagindo este de seguida com as ligações duplas presentes nas gorduras insaturadas formando peróxidos. <sup>[20]</sup>

Os peróxidos formados por foto-oxidação apresentam algumas diferenças relativamente aos que são formados por ausência de luz e sensibilizadores e quando se degradam originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos. <sup>[20]</sup>

A oxidação lipídica é um mecanismo que não pode ser cessado ou até invertido, a única alternativa é o uso de compostos que fazem com que a reacção de oxidação lipídica seja retardada, fazendo com que por exemplo no caso do Biodiesel se consiga manter as suas propriedades iniciais e que lhe conferem estatuto de biocombustível. Os antioxidantes fazem parte do grupo de compostos que podem ser utilizados como possíveis inibidores do processo oxidativo aumentando assim a estabilidade oxidativa.

### **1.5 – Antioxidantes**

Do ponto de vista químico, os antioxidantes são em geral compostos aromáticos que contêm pelo menos um grupo hidroxilo. <sup>[11]</sup> São um conjunto heterogéneo de substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais, e ainda enzimas que bloqueiam o efeito prejudicial dos radicais livres.

Como o próprio nome indica, o termo antioxidante significa “que impede a oxidação” de substâncias químicas que podem ocorrer nas reacções metabólicas ou através de factores exógenos, como reacções ionizantes.

Os antioxidantes naturais, estão presentes e podem ser obtidos nos alimentos, principalmente nas frutas, legumes, hortaliças e cereais integrais, explicando o porquê dos vegetais fazerem bem ao organismo. <sup>[11]</sup>

Nos óleos ou gorduras, os antioxidantes têm a capacidade de inibir a oxidação retardando ou minimizando a formação de peróxidos, cetonas, aldeídos, dímeros e polímeros, por meio de dois mecanismos. Podem actuar na fase da iniciação da autooxidação, removendo os radicais livres do meio, e na fase da propagação da foto-oxidação, eliminando radicais importantes através da doação de átomos de hidrogénio, diminuindo assim a formação de hidroperóxidos. Isso ocorre devido aos derivados fenólicos estabilizarem o radical livre por deslocalização electrónica no anel aromático (efeito de ressonância) impedindo reacções radicalares oxidativas. <sup>[12]</sup>

### 1.5.1 – Antioxidantes naturais

Os antioxidantes naturais são moléculas presentes nos alimentos. Pequenas quantidades destes compostos têm a capacidade de interromper a formação de radicais livres. Sendo assim, apresentam a capacidade de reduzir a velocidade das reacções de oxidação dos compostos lipídicos presentes em determinado produto. O grupo de antioxidantes naturais é constituído pelos tocoferóis, os ácidos fenólicos e extractos de plantas, sendo os tocoferóis os mais utilizados para inibir a oxidação de óleos e gorduras comestíveis uma vez que são os que apresentam melhores propriedades antioxidantes nos ácidos gordos saturados.

A actividade antioxidante dos tocoferóis depende de alguns parâmetros como a temperatura, o tipo de óleo ou gordura e a concentração de tocoferol que é usado. Na figura 6 está representada a estrutura do tocoferol.

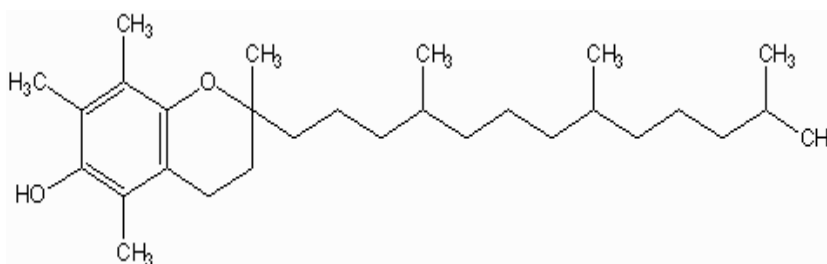
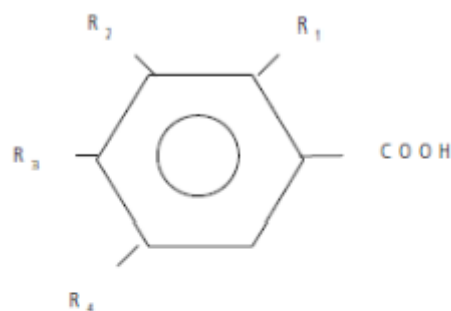


Fig. 1.7 - Estrutura do tocoferol

Outro grupo muito importante dos antioxidantes naturais, são os ácidos fenólicos. Estruturalmente apresentam um anel benzénico com um grupo carboxílico e um ou mais grupos hidroxilo e/ou metoxilo na sua estrutura molecular, que são maioritariamente responsáveis pelas propriedades antioxidantes apresentadas.

Os ácidos fenólicos podem ser divididos em três subgrupos. O primeiro subgrupo é composto pelos ácidos benzóicos, constituídos por sete átomos de carbono ( $C_6-C_1$ ) sendo estes os mais simples encontrados na natureza (Fig1.7).<sup>[13]</sup> Neste grupo encontram-se antioxidantes como por exemplo, o ácido p-hidroxibenzóico, ácido protocatecuico, ácido gálico, ácido vanílico e o ácido sirínico.



$R_3 = \text{OH}$  – Ácido p-hidrobenzoico

$R_3 = R_4 = \text{OH}$  – Ácido protocatecuico

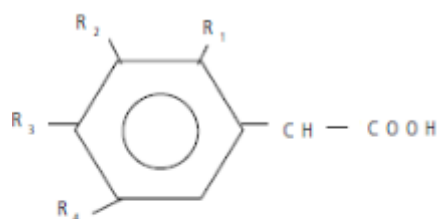
$R_3 = \text{OH}$  – Ácido vanílico

$R_2 = R_3 = R_4 = \text{OH}$  – Ácido gálico

$R_3 = \text{OH}$  – Ácido sirínico

Fig.1.8 - Estrutura química dos Ácidos Benzóicos

O segundo subgrupo é formado pelos ácidos cinâmicos, possuindo estes nove átomos de carbono ( $\text{C}_6\text{-C}_3$ ) (Fig. 1.8). Entre os mais comuns encontram-se os ácidos cafeico, ferúlico, p-coumárico e sinápico. Estes encontram-se habitualmente nos tecidos vegetais sob a forma de ésteres.



$R_3 = \text{OH}$  – Ácido coumárico

$R_2 = R_3 = \text{OH}$  – Ácido cafeico

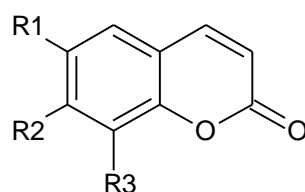
$R_3 = \text{OH}$  – Ácido ferúlico

$R_3 = \text{OH}$  – Ácido sinápico

Fig. 1.9 - Estrutura química dos Ácidos Cinâmicos

Em geral os ácidos cinâmicos, apresentam uma actividade antioxidante superior aos ácidos benzóicos, isto deve-se ao facto de os derivados dos ácidos cinâmicos apresentarem uma dupla ligação, participando esta na estabilização por ressonância do electrão desemparelhado. <sup>[12]</sup>

No último sub-grupo pertencente ao grupo dos compostos fenólicos encontram-se as cumarinas. Estes compostos derivam do sub-grupo anterior, ácido cinâmico e podem ser obtidos por ciclização da cadeia lateral do ácido o-coumárico, como as cromonas e xantonas (Fig. 1.10).



R1=R3=H; R2=OH – Umbeliferona

R1=R3=H; R2= OCH<sub>3</sub> – Herniarina

R1=R3=H; R2=OH - Esculetina

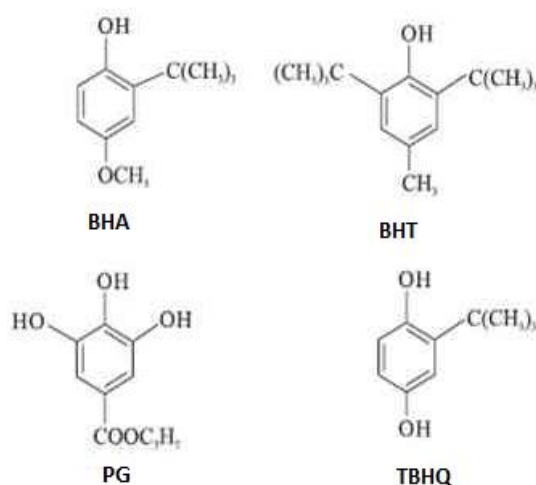
Fig. 1.10 - Estrutura química das Cumarinas

Os ácidos fenólicos têm a particularidade de poderem simultaneamente funcionar como sequestradores de radicais e quelantes de metais, podendo então agir em duas etapas diferentes da reacção de oxidação, tanto na etapa de iniciação como na etapa de propagação, sendo que os produtos formados durante estas etapas são estáveis, devido á possibilidade de ressonância no interior do anel aromático, que estes compostos apresentam.

### 1.5.2 – Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria alimentar, são o butil-hidroxianisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), galhato de propilo (PG) e a terc-butil-hidroquinona (TBHQ). Estes antioxidantes apresentam uma estrutura fenólica (figura 1.11), que lhes confere capacidade para doarem um protão a um radical livre. A doação do protão ao radical livre, permite interromper assim o mecanismo de oxidação por radicais livres. Como o antioxidante doou o protão, vai ele transformar-se ele

próprio num radical livre, sendo estabilizado por ressonância sem que promova a reacção de oxidação.



**Fig.1.11 - Estrutura fenólica de antioxidantes sintéticos butil-hidroxianisol(BHA), butil-hidroxitolueno(BHT), galhato de propilo(PG) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ)**

O BHT é um antioxidante que apresenta uma maior eficiência se for usado em gorduras animais, do que em óleos vegetais. Como a maior parte dos antioxidantes fenólicos apresenta um baixo poder antioxidante em óleos insaturados. Por outro lado, apresenta um bom poder de supressão da oxidação em óleos vegetais, que sejam de cadeia curta que apresentem insaturações, como óleo de coco e óleo de palma. Este antioxidante, apresenta pouca estabilidade a altas temperaturas.

O PG é um éster do ácido 3,4,5-tri-hidroxibenzóico, que apresenta uma boa capacidade antioxidante. No quando é usado em quantidades elevadas pode ter actividade de pró-oxidante. Normalmente não é usado em alimentos com teor de gorduras elevados uma vez que o seu poder estabilizante é mais baixo.

O TBHQ é caracterizado por apresentar uma boa solubilidade em óleos e gorduras e não complexa com iões de ferro e cobre. Deste grupo de antioxidantes, é considerado o mais eficiente em óleos vegetais e apresenta valores de eficiência antioxidante muito próximos ou superiores ao BHA, BHT e PG em gorduras animais. Apresenta também, uma boa resistência a altas temperaturas, sendo por isso indicado para óleos de fritura.<sup>[11]</sup>



### 1.5.3 - Classificação e mecanismos de acção

Os antioxidantes, podem ser classificados de acordo com o seu mecanismo de actuação. Podem ser divididos em antioxidantes primários e antioxidantes secundários.

Os antioxidantes primários promovem a remoção ou desactivação dos radicais livres que se formam na iniciação ou propagação da reacção de oxidação, doando átomos de hidrogénio aos radicais livres, fazendo com que a reacção seja interrompida (Fig.1.12). O mecanismo de acção  $\text{ROO}^\bullet$  e  $\text{R}^\bullet$  representam os radicais livres, e  $\text{AH}$  o antioxidante, que vai doar o átomo de hidrogénio aos radicais, que apresentam maior facilidade para receber o hidrogénio do que os hidrogénios alílicos das moléculas insaturadas. O radical  $\text{A}^\bullet$ , que provém do antioxidante, sendo um radical menos reactivo é estabilizado por ressonância, não tendo capacidade para continuar a reacção de oxidação.

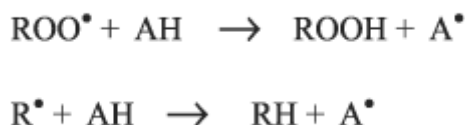


Fig. 1.12 - Mecanismo de acção de antioxidantes primários

Neste grupo são encontrados vários tipos de antioxidantes, sendo os mais utilizados, os compostos polifenólicos como o butil-hidroxianisol (BHA) e o butil-hidroxitolueno (BHT), e os tocoferóis.

Os antioxidantes secundário actuam de forma a retardar a etapa da iniciação da reacção de auto-oxidação, por diversos mecanismos que incluem complexação com metais, sequestro de oxigénio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécies não radicalares, absorção da radiação ultravioleta ou desactivação do oxigénio singleto.

Dentro destes podem-se encontrar os tioésteres, que são compostos estruturalmente muito semelhantes aos ésteres mas com a substituição de um átomo de oxigénio por um de enxofre.

### 1.5.4 – Antioxidantes estudados

Os antioxidantes utilizados neste trabalho, pertencem todos ao grupo dos compostos fenólicos, mais concretamente aos ácidos fenólicos. De forma a avaliar a importância e a influência da estrutura fenólica na inibição da peroxidação lipídica, foram utilizados compostos pertencentes ao sub-grupo dos ácidos cinâmicos e também ao sub-grupo dos ácidos benzóicos. Os antioxidantes estudados são apresentados nas figuras seguintes.

- **Sub-grupo dos ácidos benzóicos:**

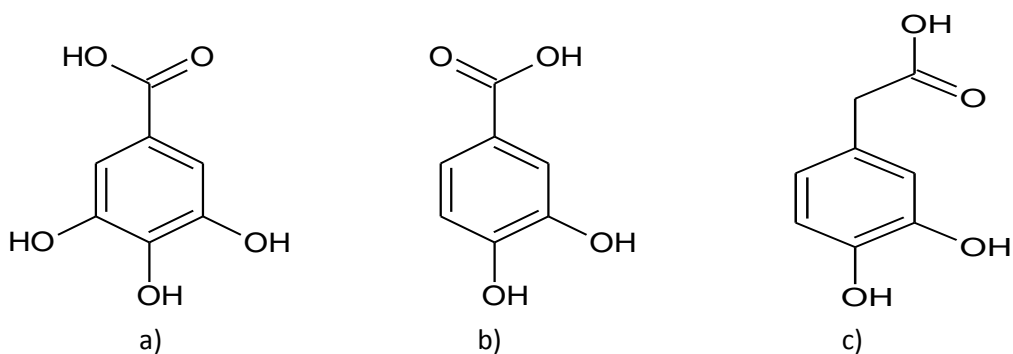
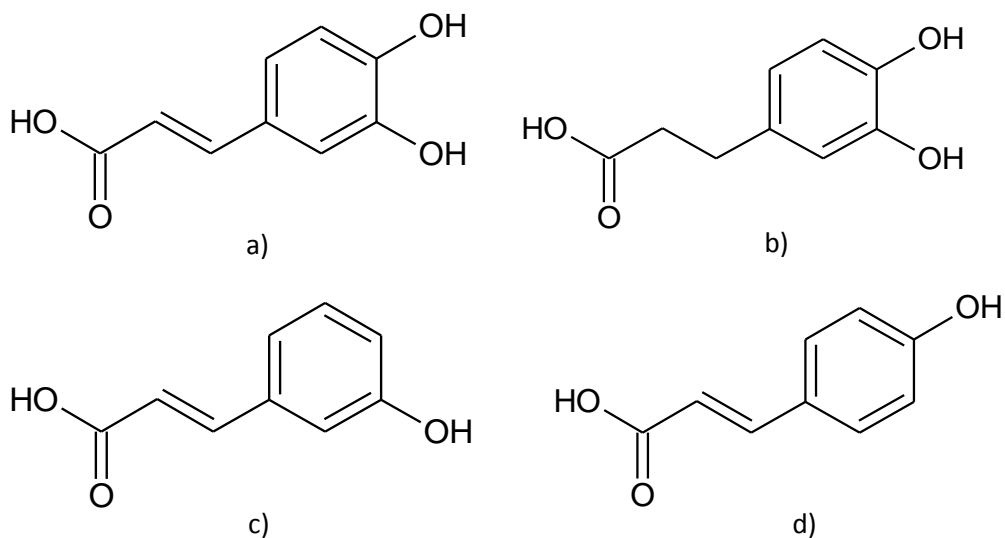
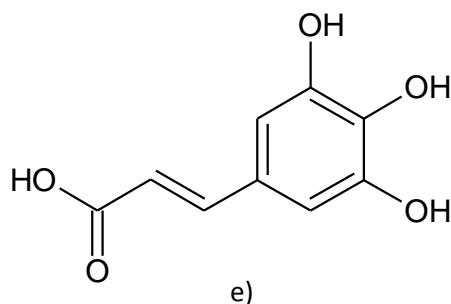


Fig.1.13 – Estrutura química dos ácidos benzóicos (a) ácido gálico; b) ácido protocatecuico; c) ácido 3,4-dihidroxifenilacético)

- **Sub-grupo dos ácidos cinâmicos:**





**Fig. 1.14 – Estrutura química dos compostos derivados do ácido cinâmico ( a) ácido cafeico; b) ácido hidrocafeico; c) ácido m-coumárico; d) ácido p-coumárico; e) ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico**

Através de uma análise as figuras anteriores, pode-se observar que a maioria dos antioxidantes apresenta diferenças na sua estrutura química. Analisando o sub-grupo dos ácidos benzóicos, pode-se ver que o ácido gálico é o único antioxidante que apresenta três grupos hidroxilo (OH) na sua estrutura, na posição 2, 3 e 4 tendo o ácido protocatecuico e o ácido 3,4-dihidroxifenilacético apenas dois grupos hidroxilo na posição 3 e 4.

Realizando uma análise ao sub-grupo dos ácidos cinâmicos, conclui-se que aquele que apresenta maior número de grupos hidroxilo é o ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico, que como o nome indica apresenta os grupos OH na posição 3, 4 e 5. Com com dois grupos hidroxilos ligados ao anel aromático surgem o ácido cafeico e o ácido hidrocafeico, e com apenas um grupo OH aparecem o ácido m-coumárico e p-coumárico.

Observando a cadeia lateral de cada composto, podemos ver que o único que não possui uma ligação dupla é o ácido hidrocafeico. A ligação dupla na cadeia lateral dos ácidos cinâmicos tem uma importância relevante uma vez que faz com que esta participe na estabilização por ressonância através do deslocamento do electrão desemparelhado. Estas características estruturais, são de grande importância para perceber a capacidade antioxidante de cada composto, pelo que serão comparadas em função dos resultados obtidos para uma melhor percepção da actividade de cada composto.



## 2 – Estado de arte

### 2.1 – Qualidade do Biodiesel

A qualidade do Biodiesel é garantida através de padrões de qualidade estabelecidos, fixando-se valores limites dos contaminantes para que estes não prejudiquem a qualidade das emissões de queima, o desempenho enquanto combustível, a integridade do motor e a segurança no transporte e manuseamento do Biodiesel. Estes valores que garantem a qualidade do combustível devem ser medidos após o processo de fabrico e ao longo do armazenamento garantindo que as propriedades não são alteradas ao longo do tempo. Os padrões de qualidade começaram a ser definidos na Áustria, estendendo-se posteriormente para outros países. Actualmente na zona europeia é utilizada a norma EN 14214, decretada pelo Comité Europeu de Normalização, em que são apresentados vários parâmetros a ter em conta assim como os valores limites que o Biodiesel pode apresentar. <sup>[14]</sup>

**Tabela 2.1 – Tabela relativa aos valores limite de parâmetros para o Biodiesel** <sup>[21]</sup>

Característica	Valor		Unidade
	Min.	Max.	
Ésteres	96,5		%(m/m)
Densidade a 15 °C	860	900	kg/m <sup>3</sup>
Viscosidade a 40°C	3,5	5	mm <sup>2</sup> /s
Ponto de inflamação	120		°C
Enxofre		10	mg/kg
Resíduo carbonoso		0,3	%(m/m)
Número de cetano	51		
Cinzas de sulfatos		0,02	%(m/m)
Água		500	mg/kg
Contaminação total		24	mg/kg
Estabilidade oxidativa	6		H
Acidez		0,5	mgKOH/g
Índice de iodo		120	gI/100g
Metilester linolénico		12	%(m/m)
Metilester polinsaturados		1	%(m/m)
Metanol		0,2	%(m/m)
Monoglicerídeos		0,8	%(m/m)
Diglicerídeos		0,2	%(m/m)
Triglicerídeos		0,2	%(m/m)
Glicerina livre		0,02	%(m/m)
Glicerina total		0,25	%(m/m)
Fósforo		10	mg/kg

É de extrema importância que o Biodiesel mantenha as suas propriedades durante o processo de armazenamento, para garantir a sua fiabilidade. Para estimar se o Biodiesel perdeu propriedades essenciais, são usadas determinadas técnicas para avaliar a sua estabilidade oxidativa

O método Rancimat, é mais usado para medir a estabilidade oxidativa do Biodiesel (norma EN 14214). Este método avalia a estabilidade oxidativa do combustível usando um período de indução de 6h. O Biodiesel é colocado num recipiente à pressão atmosférica, a uma temperatura de 110°C, os primeiros compostos a serem formados no processo de oxidação do Biodiesel são os peróxidos. À medida que o tempo avança, dá-se também a formação de compostos orgânicos voláteis, nomeadamente ácidos orgânicos de baixo peso molecular. Estes compostos vão ser conduzidos através de um fluxo de ar, para um novo recipiente que contém água destilada, sendo medida a condutividade para detectar o teor de ácidos orgânicos. O tempo que decorre, desde o início do ensaio até à detecção dos ácidos orgânicos denomina-se de período de indução.

Para avaliar a estabilidade oxidativa do Biodiesel são também utilizados métodos termoanalíticos de entre os quais se destacam a termogravimetria (TG), a calorimetria diferencial de varrimento (DSC), a calorimetria diferencial de varrimento pressurizada (P-DSC) e a análise térmica diferencial (DTA). Estes métodos avaliam o comportamento das propriedades físicas de substâncias e a reactividade da mesma, em função da temperatura em processos exotérmicos e endotérmicos, numa atmosfera específica e controlada.

A análise efectuada pela TG baseia-se na variação da massa de uma amostra (ganho ou perda) em função do tempo com temperatura constante, ou em função da própria temperatura.

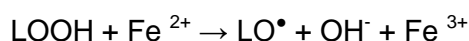
A DSC monitoriza a diferença de energia libertada entre uma amostra e um composto com maior estabilidade, em função de um programa de temperaturas controlado. Ao longo do tempo vão dar-se mudanças de temperatura na amostra, devido às mudanças de fase a que a amostra vai ser submetida.

O método P-DSC mede a energia libertada pela reacção oxidação, em vez de medir qualquer composto resultante da mesma, tornando-se um método rápido e com o auxílio da pressão permite trabalhar em temperaturas mais baixas e com menor quantidade de amostra. Este método é também usado para medir a estabilidade oxidativa em óleos sintéticos e polímeros.<sup>[15]</sup>

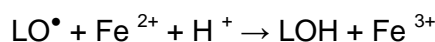
A DTA baseia-se na diferença de temperatura de uma amostra a uma dada temperatura  $T_a$  (temperatura da amostra), comparada a um composto de referência que se encontra a uma temperatura de referência ( $T_r$ ), termicamente mais estável, sendo a amostra submetida a aquecimentos e arrefecimentos a uma razão constante. As variações de temperatura que se vão dar na amostra, são variações entálpicas, endotérmicas ou exotérmicas.

Neste trabalho, o efeito de inibição dos antioxidantes estudados sobre a peroxidação do ácido linoleico foi avaliado através do método do tiocianato de ferro (III). Este método baseia-se na formação de um complexo corado (cor avermelhada) entre o anião tiocianato ( $[\text{SCN}]^-$ ) e o catião ferro ( $\text{Fe}^{3+}$ ).

À medida que o ácido linoleico oxida, formam-se os primeiros produtos resultantes dessa reacção, os hidroperóxidos (LOOH). Os hidroperóxidos oxidam os iões Fe (II) adicionados à mistura reaccional de acordo com a reacção:



O radical alcóxido formado é muito reactivo sendo capaz de reagir com outro ião Fe (II):



A subsequente complexação do Fe (III) formado com o anião tiocianato dá origem a um complexo de cor avermelhada ( $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ ) que é determinado espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 500 nm. <sup>[16]</sup>

A concentração de hidroperóxidos em solução ao longo do tempo é monitorizada pela medida da absorvância que a cor do complexo apresenta. Para a realização desta metodologia é necessário incubar as soluções numa estufa, a uma de 40°C, de forma a aumentar a velocidade da peroxidação lipídica. <sup>[16]</sup>





### 3 – Parte experimental

#### 3.1 – Reagentes

O ácido linoléico (ácido cis-9,12 octadecadienóico) com um grau de pureza de 99%, foi fornecido pela Sigma-Aldrich.

O etanol usado foi adquirido na Merck e na Panreac com um grau de pureza de 99,8%..

O tiocianato de amônio ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ ) foi fornecido pela VWR ProLABO.

A solução de tween-20 utilizada foi adquirida na Sigma-Aldrich.

Os sais de dihidrogenofosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) e hidrogenofosfato de potássio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) foram adquiridos na Panreac com um grau de pureza de 99%

#### Os antioxidantes estudados foram:

- |                        |                                     |
|------------------------|-------------------------------------|
| - Ácido gálico         | - Ácido hidrocafeico                |
| - Ácido protocatecuico | - Trolox                            |
| - Ácido cafeico        | - Ácido 3,4,5 – tri-hidroxicinâmico |
| - Ácido p-coumárico    | - Ácido 3,4 di-hidroxi-fenilacético |
| - Ácido m-coumárico    |                                     |

Os antioxidantes estudados foram fornecidos na Sigma-Aldrich. O ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico foi obtido por síntese de acordo com um procedimento descrito na literatura. <sup>[22]</sup>

#### 3.2 – Material e equipamentos

Os ensaios de inibição de peroxidação foram realizados num espectrofotómetro UV/Vis da marca Shimadzu modelo UV-1800.

Foram usadas micro-pipetas de volume variável entre 10 e 100µL de marca VW

As quantidades de reagentes necessárias para a realização dos ensaios foram pesadas numa balança analítica de marca Precisa modelo 205A.

As medições de pH foram efectuadas usando um medidor de pH de marca Crison modelo Basic 20.

A estufa utilizada para colocar as soluções era de marca Artai.

### **3.3 – Descrição experimental**

#### **3.3.1 – Preparação de soluções**

##### **Preparação da solução tampão fosfato pH 7**

A solução tampão fosfato pH 7, foi preparada a partir dos sais hidrogenofosfato de potássio ( $K_2HPO_4$ ) e dihidrogenofosfato de potássio ( $KH_2PO_4$ ) obtido comercialmente. Na balança analítica foram pesadas massas de 17,2g e 13,6g de  $K_2HPO_4$  e  $KH_2PO_4$  respectivamente. Estes sais foram de seguida dissolvidos com água desionizada até perfazer 1L.

##### **Preparação da emulsão**

Para a preparação da emulsão de ácido linoleico, pesaram-se na balança analítica 0,28g de ácido linoleico e 0,28g de solução tween-20. De seguida, estas substâncias foram dissolvidas em 50mL da solução tampão fosfato pH 7. Uma nova emulsão foi preparada sempre que se iniciou um novo ensaio da inibição da degradação do ácido linoléico.

Foi igualmente preparada uma emulsão sem ácido linoleico (branco). A preparação foi efectuada de forma idêntica mas sem a adição de ácido linoleico.

##### **Preparação das soluções de antioxidante**

Inicialmente, foi preparada uma solução-mãe para cada antioxidante estudado com uma concentração de 0,5mg/mL. Para a preparação destas soluções pesaram-se numa balança analítica as quantidades apropriadas de cada antioxidante e dissolveu-se em 5mL de etanol. As soluções de trabalho foram posteriormente preparadas por diluição retirando 500 $\mu$ L das soluções-mãe que eram seguidamente diluídas em 5mL de etanol. (diluição 10x).

### **Preparação das amostras a ensaiar**

Para a realização dos ensaios relativos a cada um dos antioxidantes testados, procedeu-se à preparação de duas soluções:

- Solução de ácido linoleico (controlo): Misturaram-se 2mL de solução tampão fosfato pH 7, 2,5mL de emulsão de ácido linoleico e 100µL de etanol
- Solução de antioxidante: Misturaram-se 2mL de solução tampão fosfato pH 7, 2,5mL de emulsão sem ácido linoleico e 100µL de antioxidante.
- Solução amostra (mistura ácido linoleico e antioxidante): A mistura consistia em 2mL de solução tampão fosfato pH7, 2,5mL de emulsão de ácido linoleico e 100µL de antioxidante.

Todas as soluções a ensaiar, foram colocadas em frascos de vidro escuro e arrolhados.

As soluções assim preparadas foram de seguida incubadas numa estufa com temperatura controlada a 40°C durante pelo menos 26h

### **Preparação da solução de tiocianato de amónio 30%**

Para a preparação da solução de tiocianato de amónio 30% pesaram-se 0,3 g deste composto na balança e dissolveram-se em 1mL de água desionizada. Esta solução foi preparada diariamente.

### **Preparação da solução de cloreto de ferro (II) 0,02 M**

Para a preparação da solução de cloreto de ferro (II) pesou-se uma massa de 0,013g na balança analítica e dissolveu-se em 5mL de solução de ácido clorídrico 3.5%. Após preparação, esta solução era guardada cuidadosamente ao abrigo da luz. A solução de cloreto de ferro(II) foi preparada diariamente

#### **3.3.2 – Estudo da inibição da peroxidação lipídica**

A inibição da peroxidação lipídica foi efectuada por espectrofotometria de UV/Vis. O comprimento de onda seleccionado, 500nm, corresponde ao máximo de absorção do complexo de tiocianato de ferro (III). A avaliação da inibição da peroxidação lipídica foi efectuada de acordo com o seguinte procedimento: retiraram-se 100µL de cada uma

das soluções amostra a ensaiar, à qual se adicionavam 5mL de etanol 70%, 100μL de solução de tiocianato de amónio 30% e 100μL de solução de cloreto de ferro II 0,02M. Após 3 minutos de reacção procedia-se à leitura das absorvâncias no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 500nm.

A actividade antioxidante expressa em percentagem de inibição de peroxidação (%IP), foi calculada através da expressão matemática (equação 1):

$$\%IP = \left( 1 - \left( \frac{ABS(mistura) - ABS(antioxidante)}{ABS(ácido linoleico)} \right) \right) * 100$$

Em que a Abs(mistura) corresponde ao valor de absorvância para a solução contendo ácido linoleico e antioxidante, e ABS(ácido linoleico) corresponde à absorvância lida para a solução que continha apenas ácido linoleico. Para efectuar os cálculos da %IP subtraiu-se o valor da absorvância obtida no ensaio contendo apenas antioxidante, ao valor obtido na mistura.

#### 4 - Análise e discussão dos resultados

Como foi referido anteriormente a matéria-prima principal para a produção do Biodiesel são óleos e gorduras vegetais e animais que apresentam na sua composição ésteres formados na reacção de ácidos gordos com o glicerol denominados de triglicerídeos. Desta forma, o Biodiesel é composto por vários ácidos gordos insaturados como o ácido palmítico, ácido oleico, ácido linolénico e o ácido linoleico, sendo este último aquele que aparece em maior percentagem na composição final do Biodiesel.

Sendo o ácido linoleico um dos ácidos gordos insaturados presentes na composição do Biodiesel, é também um dos responsáveis pela degradação lipídica que antecede à degradação do combustível. Como referido anteriormente, o processo mais comum para a degradação do Biodiesel denomina-se de auto-oxidação, e na fase da iniciação e de propagação da mesma, dá-se a formação de compostos como peróxidos e hidroperóxidos. O trabalho desenvolvido nesta dissertação centra-se precisamente nessa fase de degradação lipídica, e visa o estudo da eficiência de vários antioxidantes, no sentido de melhorar e aumentar a estabilidade da mistura de ácidos gordos (representada neste estudo pelo ácido linoleico) presentes no Biodiesel de forma que este resista melhor ao processo de auto-oxidação prolongando a sua estabilidade no armazenamento.

A avaliação da capacidade de inibição da oxidação do ácido linoléico por parte dos antioxidantes em estudo baseou-se no método do tiocianato férrico descrito amplamente na literatura para a análise da peroxidação lipídica em amostras alimentares.<sup>[16]</sup> O método usado para o estudo baseia-se na medição da quantidade de hidroperóxidos que se vão formando ao longo do tempo por oxidação dos lípidos presentes numa dada amostra.

Inicialmente efectuou-se o estudo da oxidação do ácido linoleico à temperatura de 40°C de forma a avaliar o processo de auto-oxidação ao longo do tempo. Na figura 4.1 apresenta-se o comportamento do ácido linoleico a uma temperatura de 40°C durante 70 horas, nas condições descritas anteriormente (estudo da inibição da peroxidação lipídica). Como é possível observar, a quantidade de hidroperóxidos formados atinge um valor máximo após 26 horas de reacção. Embora os hidroperóxidos sejam os produtos primários da peroxidação lipídica, eles não são produtos finais estáveis. Assim, a partir das 26 horas é provável que a velocidade de formação dos

hidroperóxidos seja inferior à da sua decomposição pelo que se observa um decréscimo da quantidade formada deste produto.

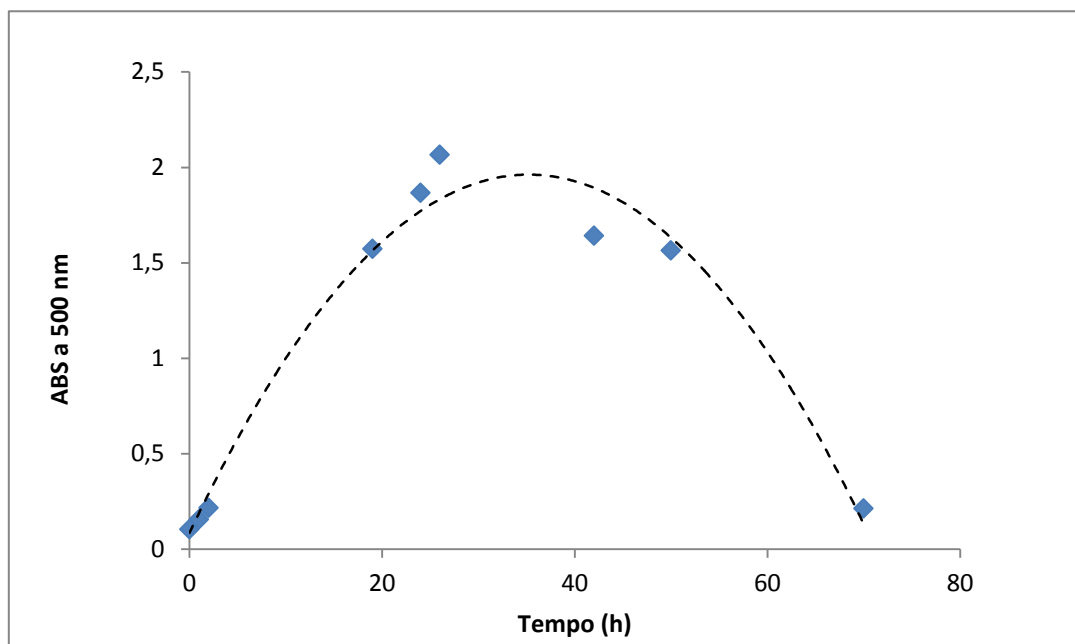


Fig. 4.1 -- Estudo do comportamento do ácido linoleico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)

Assim, todos os ensaios realizados envolvendo a inibição da peroxidação do ácido linoleico pelos antioxidantes foram realizados após 26 horas de reacção.

Para avaliar a inibição da peroxidação do ácido linoleico pelos diferentes antioxidantes em estudo, preparou-se e efectuou-se a análise simultânea de três soluções: a primeira contendo exclusivamente o antioxidante, a segunda contendo somente o ácido linoleico e a terceira que corresponde à mistura de ácido linoleico e antioxidante (amostra a ensaiar).

Na figura 4.2 apresenta-se o resultado obtido para o estudo da inibição da peroxidação do ácido linoleico pelo ácido gálgico. Valores de absorvância baixos são indicativos de uma acentuada inibição da peroxidação lipídica e consequentemente de uma elevada actividade antioxidante.

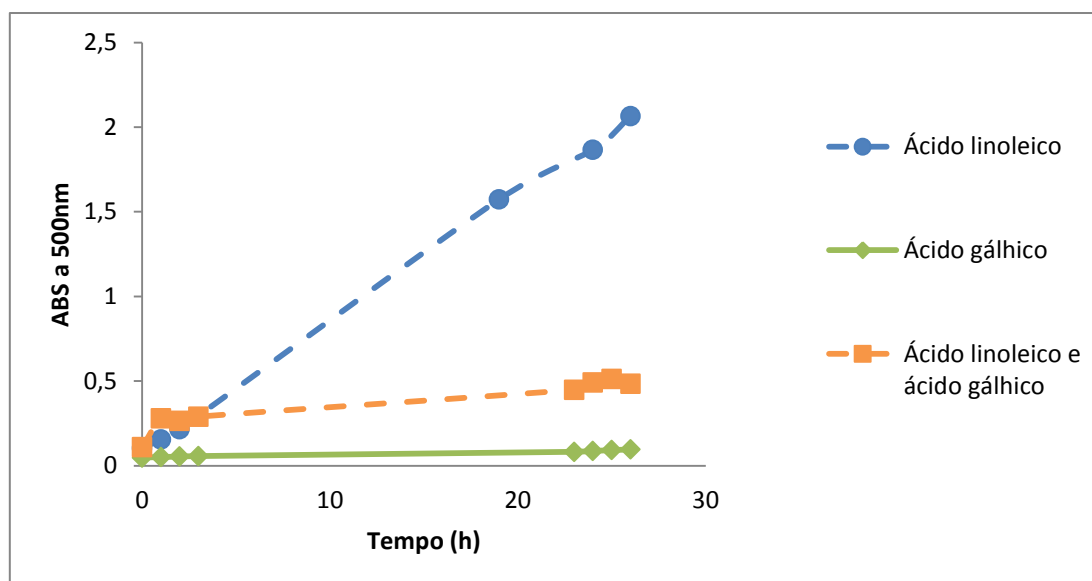


Fig. 4.2 - Estudo do comportamento da mistura ácido linoleico e ácido gálico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)

O resultado obtido para a inibição da peroxidação (%IP) é apresentado na tabela 4.1. A percentagem de inibição da peroxidação para o ácido linoleico pelo ácido gálico é de 76,5%

Este procedimento foi aplicado a todos os outros antioxidantes em estudo: ácido protocatecuico, ácido p-coumárico, ácido m-coumárico, ácido cafeico, ácido hidrocafeico, ácido 3,4-di-hidroxifenilacético e ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico. Para efeitos de comparação procedeu-se ainda ao estudo da inibição de peroxidação do ácido linoleico usando um antioxidante de referência, o trolox. O trolox é um antioxidante sintético muito utilizado em estudos de peroxidação lipídica por ser um análogo da vitamina E e ser hidrossolúvel. A figura. 4.3 expõe o resultado do estudo da inibição da peroxidação lipídica no ácido linoleico usando o trolox.

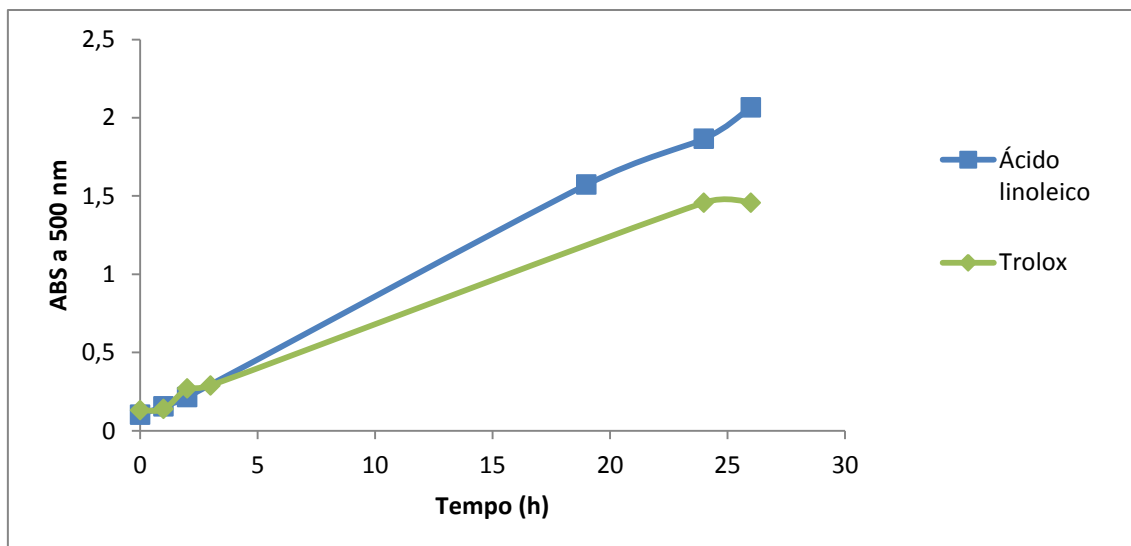


Fig. 4.3 - Estudo do comportamento do trolox a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)

Os resultados obtidos para os estudos de inibição da peroxidação lipídica usando os diferentes antioxidantes testados apresentam-se resumidos na tabela 4.1.

**Tabela 4.1 – Inibição da peroxidação lipídica do ácido linoleico, expressa em percentagem de inibição (%IP), pelos diferentes antioxidantes em estudo.**

Antioxidante	%IP
Ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico	77,9
Ácido gálico	76,5
Ácido protocatecuico	81,7
Ácido 3,4-di-hidroxifenilacético	80,6
Ácido hidrocafeico	78,9
Ácido cafeico	77,0
Ácido m-coumárico	73,7
Ácido p-coumárico	70,0
Trolox	23,0



Na figura 4.4 é apresentado um gráfico de barras, onde se pode observar a eficiência (expressa %IP) de cada um dos antioxidantes estudados na inibição da peroxidação do ácido linoleico.

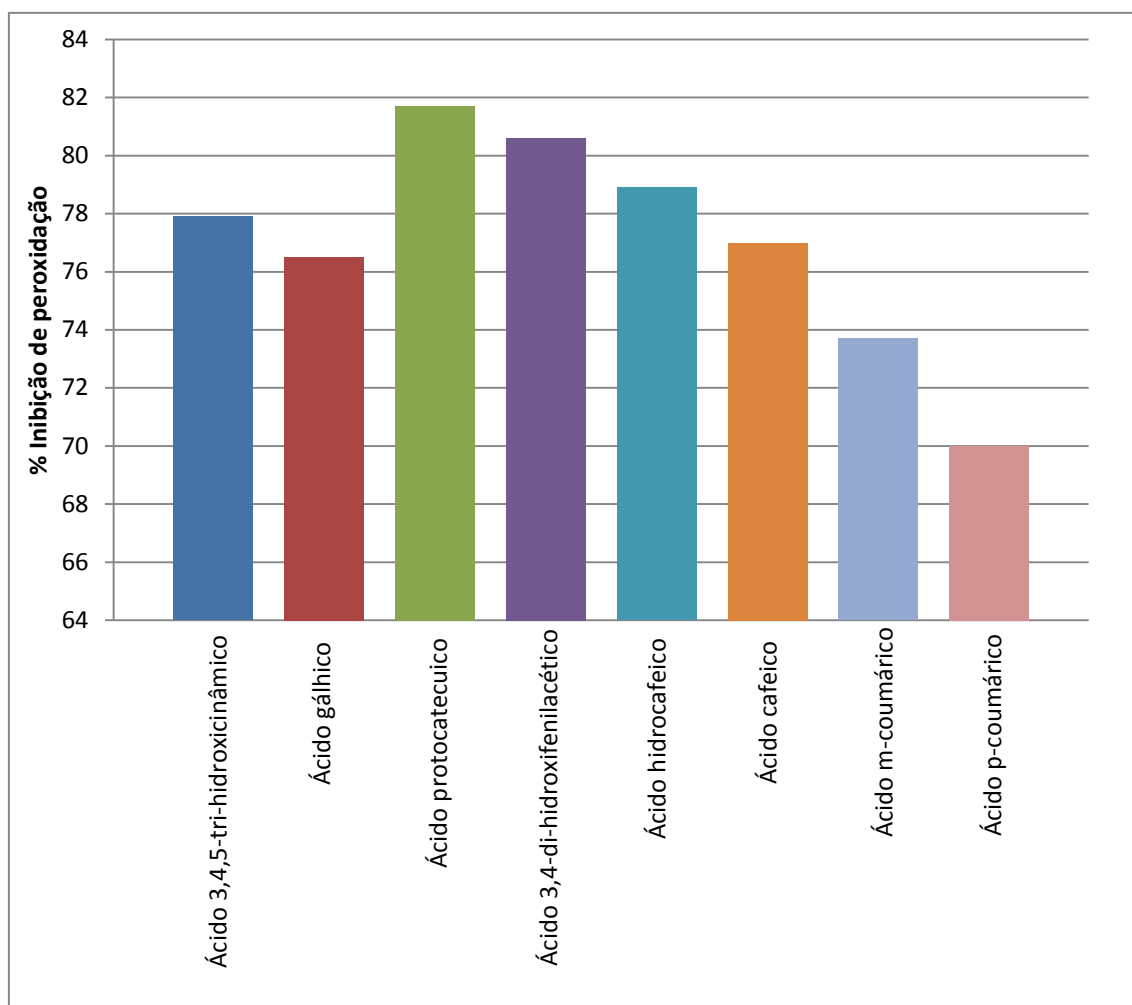


Fig. 4.4- Estudo da inibição peroxidação do ácido linoleico, expressa em %IP, pelos antioxidantes em estudo

A análise dos dados apresentados na tabela 4.1 e na figura 4.4, permite concluir que, para além do trolox, todos os antioxidantes testados apresentam uma elevada capacidade para inibir a peroxidação lipídica do ácido linoleico. De facto, as percentagens de inibição da peroxidação do ácido linoleico variaram entre os 72%, observados para o ácido p-coumárico, e os 82 %, verificados para o ácido protocatecuico. Apesar dos valores de percentagem de inibição não serem significativamente diferentes, verifica-se que os antioxidantes derivados do ácido benzóico apresentam em geral uma maior capacidade antioxidante que os derivados do ácido cinâmico.

De facto, o grupo constituído pelos derivados do ácido benzóico apresenta um conjunto de %IP que variam entre os 76,5% e os 81,7% enquanto os derivados do ácido cinâmico apresentam IP% inferiores compreendidos entre 70,6% e os 78,8%.

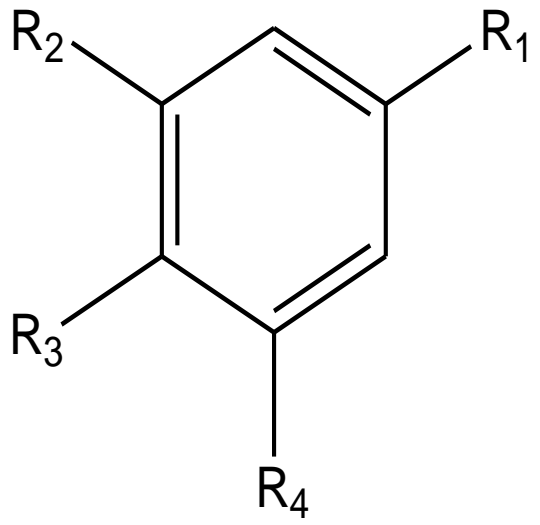
Em qualquer dos casos a capacidade de inibição da peroxidação lipídica por parte dos antioxidantes fenólicos testados é de longe muito superior à observada para o antioxidante usado como referência, o trolox.

Os valores encontrados neste estudo para o ácido cafeico e para o trolox são comparáveis com os descritos na literatura utilizando este mesmo método.<sup>[17,18]</sup> Os valores descritos para a % de inibição de peroxidação pelo ácido cafeico e trolox são de 75,8% e 20%, respectivamente.<sup>[17]</sup> A semelhança entre os valores obtidos e os descritos na literatura corrobora a elevada capacidade de inibição dos antioxidantes fenólicos em estudo face ao trolox.

Como se referiu anteriormente, os antioxidantes fenólicos têm a característica de actuar como sequestradores de radicais, podendo então actuar na etapa de iniciação e também na etapa de propagação da reacção de oxidação lipídica. Essa forma de actuar fica a dever-se à estrutura química apresentada pelos ácidos fenólicos constituída por um anel benzénico, um grupo carboxílico e um ou mais grupos hidroxilo, sendo estes grupos responsáveis por sequestrar radicais livre e formar compostos estáveis devido à possibilidade ocorrência de ressonância no anel aromático. Ou seja, é de relativa importância o número de grupos substituintes hidroxilo para um composto ser mais ou menos eficiente como antioxidante. Em geral a capacidade antioxidante melhora com o aumento do número de grupos substituintes hidroxilo.<sup>[11]</sup> No entanto, existem outros factores nomeadamente a existência ou não na estrutura de cadeia lateral, a temperatura e também o tipo de matriz onde o antioxidante vai actuar como antioxidante.

De modo a avaliar a influência do número de grupos substituintes e da cadeia lateral na actividade antioxidante, apresenta-se na tabela 4.2 a comparação da percentagem de inibição da peroxidação do ácido linoleico com a quantidade de grupos hidroxilo e com a cadeia lateral que cada antioxidante estudado apresenta.

#### 4.2 – Comparação da % de inibição da peroxidação, grupos fenólicos e cadeia lateral para os antioxidantes estudados

Composto	%IP	R2	R3	R4	R1	Estrutura química
Ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico	77,9	OH	OH	OH	CH=CH-COOH	
Ácido gálico	76,5	OH	OH	OH	COOH	
Ácido protocatecuico	81,7	OH	OH	H	COOH	
Ácido 3,4-di-hidroxifenilacético	80,6	OH	OH	H	CH <sub>2</sub> COOH	
Ácido hidrocafeico	78,9	OH	OH	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -COOH	
Ácido cafeico	77,0	OH	OH	H	CH=CH-COOH	
Ácido m-coumárico	73,7	OH	H	H	CH=CH-COOH	
Ácido p-coumárico	70	H	OH	H	CH=CH-COOH	

Na tabela 4.2, está representada a estrutura química geral de um ácido fenólico, encontrando-se representado o anel benzénico, os grupos hidroxilo e a cadeia lateral (R1). Como se referiu anteriormente o número de substituintes hidroxilo ligados ao anel aromático que o antioxidante influencia a %IP que esse composto apresenta, simultaneamente a posição em que os grupos estão ligados também tem grande importância, sendo a posição R2 e em R3 as que, por norma, mais favorecem o aumento da eficiência antioxidante de um composto. Este caso é representado pelo ácido protocatecuico que apresenta 2 grupos hidroxilo ligados ao anel benzénico, colocados um na posição R2 e outro na posição R3 do anel, podendo ser esse um dos factores que faz com que apresente uma %IP 81,7%, a mais elevada entre todos os compostos estudados. Compostos como o ácido 3,4-di.hidroxiifenilacético, ácido cafeico, ácido hidrocafeico e ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico, apresentam estruturas químicas muito parecidas com 2 ou 3 grupos hidroxilo na sua estrutura química, e cadeias laterais muito semelhantes, o que poderá causar uma %IP muito próxima entre os três compostos como é possível confirmar na tabela 4.1. De referir que os compostos ácido cafeico e ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico apresentam na sua cadeia lateral uma ligação dupla o qual não acontece com o ácido hidrocafeico e apresentam valores de %IP muito semelhantes.

Tanto o ácido m-coumárico como o ácido p-coumárico apresentam valores de %IP mais baixos na ordem dos 70%, sendo que estes dois compostos também apresentem bastante semelhanças na sua estrutura apresentando apenas um grupo substituinte, no anel aromático, estando o grupo hidroxilo no ácido m-coumárico na posição R2 e para o p-coumárico na posição R3.

Em conclusão, dos resultados obtidos não é possível retirar uma tendência geral. De facto, ao aumento do número de substituintes hidroxilo não corresponde um aumento significativo da percentagem de inibição. As percentagens de inibição obtidas para o ácido m-coumárico, ácido protocatecuico e ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico foram de 74, 82 e 78%, respectivamente. O mesmo se verifica com a existência ou não de cadeia lateral na posição R1. As percentagens de inibição obtidas para o ácido protocatecuico, ácido 3,4-dihidroxiifenilacético, ácido hidrocafeico e ácido cafeico foram de 82, 81, 79 e 77%, respectivamente. O facto de existir a possibilidade de uma deslocalização acrescida do radical através da cadeia lateral conjugada não parece ser um factor muito importante que influencie a inibição da peroxidação do ácido linoleico por parte do antioxidante.

## 5 - Conclusão e sugestões futuras

O Biodiesel apresenta-se como um combustível que pode ser alternativa aos combustíveis fósseis utilizados actualmente. É um combustível que apresenta menor taxa de poluição no seu processamento e caracteriza-se por ser produzido a partir de gorduras animais e óleos vegetais abundantes na natureza o que é um factor a ter em conta uma vez que as reservas actuais de petróleo estarão a escassear e este demora décadas para se formar.

Mas como toda a matéria que é composta por gorduras, sofre um fenómeno denominado de oxidação lipídica diminuindo o seu tempo de vida, e alterando propriedades que eram fundamentais no uso como combustível. Nesse sentido existe um enorme interesse no desenvolvimento de antioxidantes uma vez que estas substâncias caracterizam-se por retardar ou reduzir a velocidade a que ocorre a oxidação lipídica em alimentos e também no Biodiesel. Os antioxidantes podem ser obtidos na natureza mas também podem ser produzidos artificialmente. Este estudo centra-se particularmente nos antioxidantes fenólicos englobando derivados do ácido benzóico e do ácido cinâmico.

Neste trabalho pretendeu-se avaliar a inibição da oxidação lipídica num dos principais constituintes do Biodiesel, o ácido linoleico, através do método do tiocianato de ferro (III).

Inicialmente foi efectuado um teste para avaliar o processo de auto-oxidação no ácido linoleico, tendo-se verificado que, nas condições usadas, a concentração máxima de hidroperóxidos é obtida ao fim de 26 horas de reacção.

Posteriormente foram realizados ensaios para amostras que continham misturas de ácido linoleico e antioxidante. Os resultados da inibição da peroxidação lipídica pelos diferentes antioxidantes testados foram expressos em percentagem de inibição. As percentagens de inibição obtidas foram de 23% para o trolox, 70,6% para o ácido p-cumárico, 73,7% para o ácido m-cumárico, 76,5% para o ácido gálico, 77,9% para o ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico, 77% para o ácido cafeico, 78,9% para o ácido hidrocafeico, 80,6% para o ácido 3,4-di-hidroxifenilacético e 81,7% para o ácido protocatecuico.

Foi importante estender este estudo ao trolox visto que, este é um antioxidante artificial muito utilizado na indústria. O seu baixo índice de inibição de peroxidação pode ser explicado pelo Paradoxo de Porter. Este Paradoxo refere que a percentagem

de inibição varia com a polaridade dos compostos, ou seja, antioxidantes polares são mais eficientes em matrizes apolares, sendo que o contrário também se aplica. Sendo o trolox um composto apolar, e o ácido linoleico um composto de matriz também apolar a eficiência de actuação do trolox será mais reduzida que compostos polares. Isso explica a grande diferença de percentagem de inibição da peroxidação do trolox para os outros antioxidantes usados neste estudo, sendo estes polares.

Como sugestão para trabalhos futuros seria importante realizar o estudo usando outros antioxidantes, assim como testar diferentes concentrações de antioxidante de forma a avaliar este parâmetro na oxidação lipídica. Seria importante também, avaliar a inibição da peroxidação destes antioxidantes, utilizando o método de referência (Rancimat) e comparar os resultados com os obtidos.

## Bibliografia

- [1] – Rocha, P, Liz, *Biocombustíveis: uma alternativa eficaz e menos agressiva ao meio ambiente*; Vol.2, No.1, 2012. (Artigo acedido e descarregado versão pdf em Fevereiro 2012)
- [2] – Koga, K, Eduardo; Goto, K, André; da Silva, P, Raquel; Bezerra, B, Ângela *Biodiesel: Uma Relação Viável entre Ciência, Tecnologia, Meio-Ambiente, Sociedade e Economia*. [http://www.aedb.br/seget/artigos06/965\\_ArtigoBiodiesel.pdf](http://www.aedb.br/seget/artigos06/965_ArtigoBiodiesel.pdf) (artigo acedido e descarregado em Janeiro 2012)
- [3] – Pedrotti, Fabrício; *BIODIESEL – Combustível ecológico*; Curso técnico em Química, Escola Técnica da UFRGS. (artigo acedido e descarregado em Junho 2012)
- [4] – Oliveira, Charlenne; Mendonça, Carla; Heller, Fernanda; *Avaliação da acção de antioxidantes em biodiesel submetido à oxidação induzida*. [http://www2.ufpel.edu.br/cic/2011/anais/pdf/CE/CE\\_01186.pdf](http://www2.ufpel.edu.br/cic/2011/anais/pdf/CE/CE_01186.pdf) (Artigo acedido e descarregado em Janeiro 2012)
- [5]- Viscardi, Franco; *Análise da viabilidade técnica e económica do biodiesel no Brasil*. [http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0659\\_05.pdf](http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0659_05.pdf) (artigo acedido e descarregado em versão pdf em Janeiro 2012)
- [6] – Da Silveira, Benedito; *Produção de Biodiesel “análise de processos e reactores químicos”* 1ª Edição, 2011.  
[http://books.google.com.br/books?id=uKZvSLkz2\\_sC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.br/books?id=uKZvSLkz2_sC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false) (Livro acedido em versão pdf em Março 2012)
- [7] – Borsato, Dionísio; *Aplicação do delineamento simplex-centroide no estudo da cinética de oxidação de biodiesel B100 em misturas com antioxidantes sintéticos*. Química Nova, Vol.33, No.8, 1726-1731, 2010. (Artigo acedido e descarregado em versão pdf em Fevereiro 2012)
- [8] – Ferrari, Roseli; *Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes*, Química Nova, Vol.32, No.1, 106-111, 2009 (Artigo acedido e descarregado versão pdf em Janeiro 2012)

- [9] – Carvalho, Hugo; Ribeiro, Aldinei; *Biodiesel: Vantagens e desvantagens numa comparação com o diesel convencional*. Bolsista de valor, No.2, Vol.1, 2012 (Artigo acedido e descarregada versão pdf em Junho de 2012).
- [10] – Barreto, Marcos; Silva, Gabrielli; Moraes, Fernanda; Silva, Gabriel; *Optimização da reacção de transesterificação do óleo de mamona*. <http://www.cbmamona.com.br/pdfs/BID-36.pdf> (Artigo acedido e descarregado versão pdf em Junho 2012)
- [11] – *Dossier: Os antioxidantes*, Revista-FI, No.6, 2009 (Artigo acedido e descarregado em Fevereiro 2012)
- [12] – Soares, Sérgio; *Ácidos fenólicos como antioxidantes*, Revista Nutrição, No.1, Vol.15, 71-81, 2002. (Artigo acedido e descarregado versão pdf em Fevereiro 2012)
- [13] – Filho, Manuel; *Uso como antioxidante no controle do processo oxidativo de biodiesel etílico de algodão*, Tese de doutoramento, Pós-graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, 2010. (Artigo acedido e descarregado Fevereiro de 2012)
- [14] - Lobo,Ivon; Ferreira, Sérgio; *Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analítico*, Química Nova, Vol.32, No.6, 1596.1608, 2009. (Artigo acedido e descarregado em Fevereiro de 2012)
- [15] – Dos Santos, Nataly; *Propriedades termo-oxidativas e de fluxo e babaçu*, Tese de Mestrado, Universidade Federal de Paraíba, 2008. (Tese acedido e descarregada em Setembro de 2012)
- [16] – Nascimento, Rosilda; Araújo, Cristiane; Melo, Enayde; *Actividade antioxidante de extractos de resíduo agro-industrial de goiaba*, Alim. Nutr., Araraquara, Vol.21, No.2, 209-216, 2010. (Artigo acedido e descarregada versão pdf em Fevereiro de 2012).
- [17] – Gülçin, İlhami; *Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxynnamic acid)*; Toxicology, Vol.217, No.2-3, 213-220, 2006. (Artigo acedido e descarregada versão pdf em Setembro de 2012.)
- [18] – Broinizi, Priscila; Andrade-Wartha, Elma; Oliveira e Silva, Ana; Novoa, Aléxis; Torres, Rosângela; Azeredo, Henriette; Alves, Ricardo; Mancini-Filho, Jorge; *Avaliação da actividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em*



*subprodutos do pseudo fruto do caju*; Cienc. Tecnol. Aliment.; Vol.27, No.4,2007 (Artigo acedido e descarregada versão pdf em Setembro de 2012.)

[19] – Quast, Leda; Aquino, Arislete; “*Oxidação dos lípidos em café arábica*”; B. Ceppa, Curitiba, Vol.22, No.2, 325-336, 2004 (Artigo acedido e descarregada versão pdf em Setembro de 2012)

[20] – Dunn, Robert; “*Antioxidants for improving storage stability of biodiesel*”; Biofuels, Bioproducts and Biorefining, Vol.2, No.4, 304-318, 2008 (Artigo acedido em Fevereiro de 2012)

[21] – “*Prio: introdução do biodiesel em Portugal*” (ficheiro power point acedido em Setembro de 2012)

[22] - Fiuza SM, Besien EV, Milhazes N, Borges F, Marques MPM. Conformational analysis of a trihydroxylated derivative of cinnamic acid—A combined Raman spectroscopy and Ab initio study. J Mol Struct 2004;693:103 – 1

[23]- Alles de Jesus, Anderson, “*Síntese de Biodiesel em meio contínuo pressurizado empregando hidrotalcitas como catalisadores de heterogéneo*”; Dissertação ao programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos, Universidade Tiradentes, 2010. (Dissertação acedida e descarregada em versão pdf em Janeiro de 2013)

[24] – De Sousa Maurício, Sara, “*A produção de Biodiesel a partir de óleos alimentares usados*”; Tese de Mestrado, Universidade de Aveiro, 2008. (Tese acedida e descarregada versão pdf em Maio de 2013)

## Anexos A

Nesta secção, serão apresentados as restantes espectros efectuados para o estudo da inibição da peroxidação para os antioxidantes ácido protocatecuico, ácido m-coumárico, ácido p-coumárico, ácido 2,3 di-hidroxifenilacético, ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico, ácido cafeico, ácido hidrocafeico. As curvas representadas referem-se aos valores obtidos nos ensaios com antioxidante e ácido linoleico, com o valor das absorvâncias dos antioxidantes subtraídos.

Na figura A1 está representado o espectro realizado para o estudo da inibição lipídica em ácido linoleico para o ácido protocatecuico.

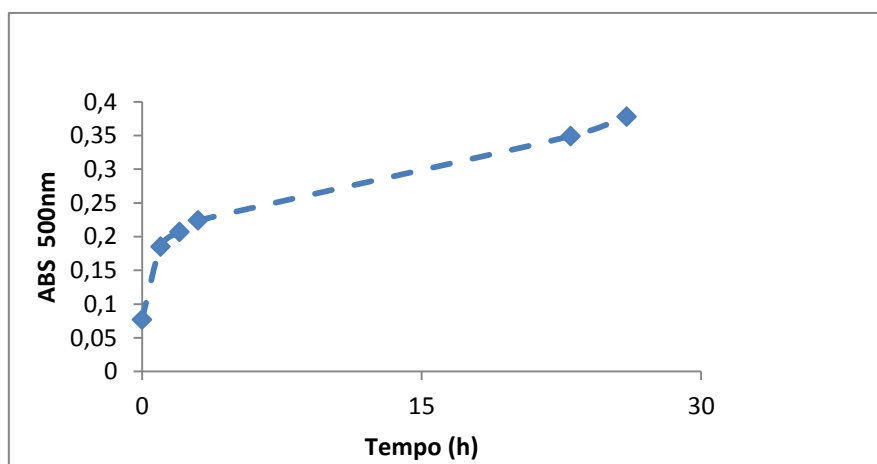


Fig. A1 – Estudo do comportamento do ácido protocatecuico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)

Na figura A2 está representado o espectro realizado para o estudo da inibição em ácido linoleico para o ácido m-coumárico.

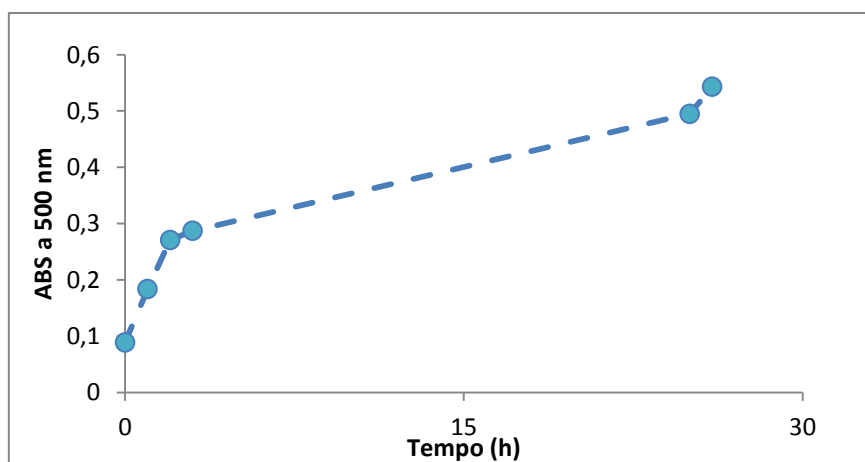


Fig. A2 -- Estudo do comportamento do ácido m-cumárico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)

Na figura A3 está representado o espectro realizado para o estudo da inibição em ácido linoleico para o ácido p-cumárico.

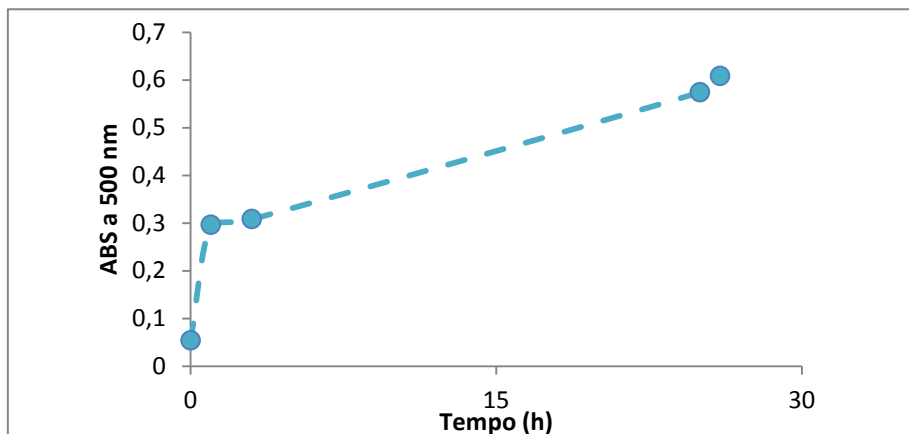


Fig. A3 - Estudo do comportamento do ácido p-cumárico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)

Na figura A4 está representado o espectro realizado para o estudo da inibição em ácido linoleico para o ácido 2,3 di-hidroxifenilacético.

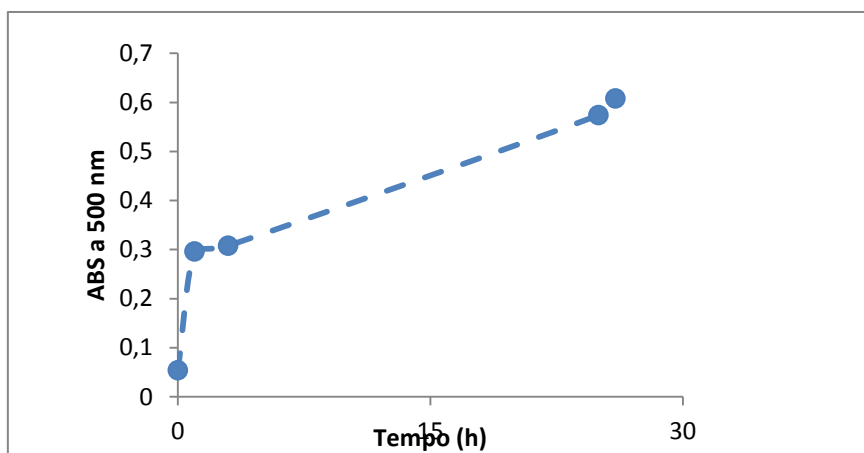
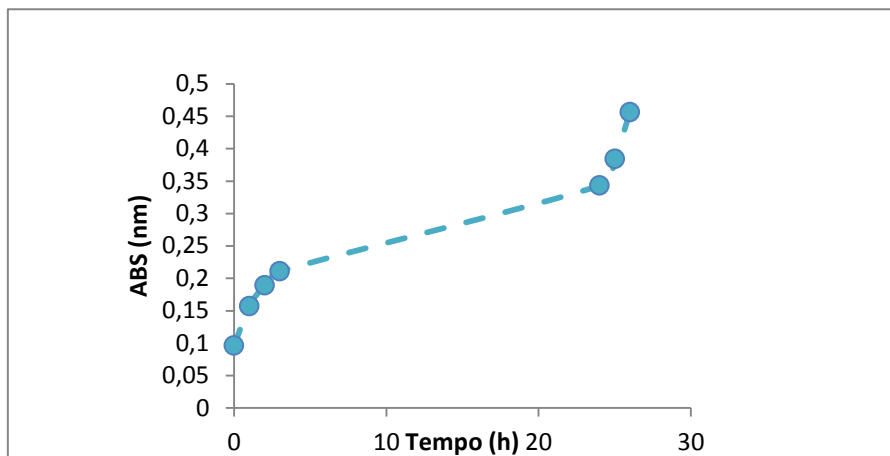


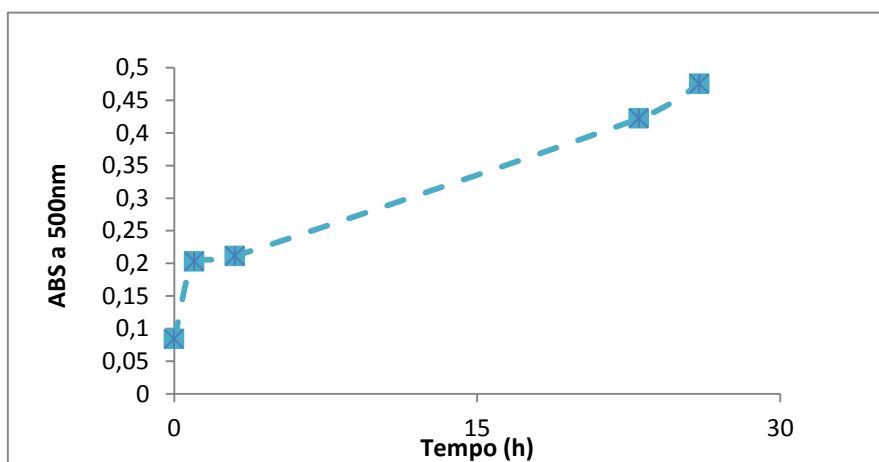
Fig. A4 - Estudo do comportamento do 2,3 di-hidroxifenilacético a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)

Na figura A5 está representado o espectro realizado para o estudo da inibição em ácido linoleico para o ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico.



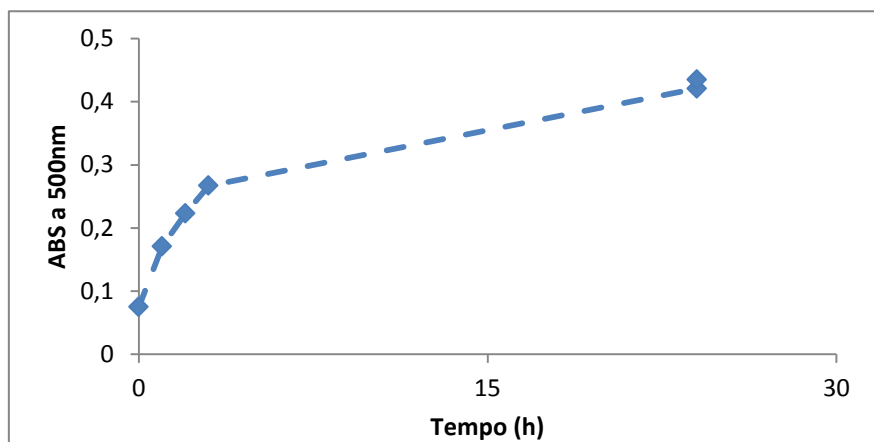
**Fig.A5 – Estudo do comportamento do ácido 3,4,5-tri-hidroxicinâmico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)**

Na figura A6 está representado o espectro realizado para o estudo da inibição em ácido linoleico para o ácido cafeico.



**Fig. A6 - Estudo do comportamento do ácido cafeico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)**

Na figura A7 está representado o espectro realizado para o estudo da inibição em ácido linoleico para o ácido hidrocafeico.



**Fig. A7 - Estudo do comportamento do ácido cafeico a uma temperatura de 40°C ao longo do tempo (os valores apresentados representam a média de três determinações)**